ÖSTERREICHISCHE AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN
MATHEMATISCH-NATURWISSENSCHAFTLICHE KLASSE
UNIVERSITY OF HAWAII
LIBRARY
VEREIN ÖSTERREICHISCHER CHEMIKER
OCT 8 '54

MONATSHEFTE FÜR CHEMIE

UND VERWANDTE TEILE ANDERER WISSENSCHAFTEN

HERAUSGEGEBEN VON
L. EBERT G. F. HÜTTIG F. WESSELY

SCHRIFTLEITUNG
F. GALINOVSKY

85. BAND, 4. HEFT
MIT 78 TEXTABBILDUNGEN
(AUSGEGEBEN AM 15. AUGUST 1954)

WIEN
SPRINGER-VERLAG
1954

Mh. Chem.

Monatshefte für Chemie

1. Die Monatshefte für Chemie werden ab Band 85 (1954) gemeinsam von der Math.-Naturw. Klasse der Österr. Akademie der Wissenschaften und dem Verein Österr. Chemiker herausgegeben. Vom gleichen Zeitpunkt an wird die Ausgabe der Abt. IIb der Sitz.-Ber. d. Math.-Naturw. Kl. d. Öst. Akad. d. Wiss. eingestellt, so daß die bisherige Doppelzitierung entfällt.

2. Mitglieder des Vereins Österr. Chemiker haben das Recht zu verbilligtem Bezug der Mh. Chem. Näheres ist beim Sekretariat des VÖCH, Wien I, Eschenbachgasse 9, zu erfragen.

3. Die Zeitschrift erscheint in einzelnen Heften, am 15. II., 15. IV., 15. VI., 15. VIII., 15. X. und 15. XII.; die während eines Jahres erschienenen Hefte bilden einen Band. Der Preis eines Heftes richtet sich nach Umfang und Herstellungskosten.

4. Als Beiträge kommen nur Originalarbeiten bis zu höchstens 20 Druckseiten in Betracht. Jeder Arbeit soll eine kurze Inhaltsangabe (bis zu 15 Zeilen) vorangestellt sein. Das Institut, aus dem die Arbeit stammt, oder die Adresse des Verfassers muß genannt sein. Polemische Arbeiten werden nur aufgenommen, insoweit sie tatsächliche Richtigstellungen enthalten.

5. Der Text soll so kurz als nur möglich gefaßt sein; Abbildungen, Tabellen sind auf das Äußerste zu beschränken, chemische und mathematische Formeln sind möglichst raum- und zeilensparend zu gestalten. Den Titel bitten wir von vorneherein in der in den Mh. üblichen Form zu schreiben. Zitate nach dem Muster: Mh. Chem. 80, 233 (1949). Zweckmäßige Verwendung von Kleindruck, besonders für experimentelle Teile, und gute Textierung von Abbildungen und Tabellen helfen Raum sparen.

6. Alle Manuskripte sind an den Schriftleiter Prof. Dr. *F. Galinovsky*, Wien IX, Währinger Straße 38 (A 11-5-14 und A 11-5-15) zu senden, der den Tag des Posteinganges bestätigt; dagegen sind alle geschäftlichen Mitteilungen an den Springer-Verlag, Wien I, Mölkerbastei 5, Tel. U 26-5-60 Serie, Telegrammadresse: Springerbuch Wien, zu richten.

Die Herausgeber prüfen die Manuskripte und entscheiden über die Aufnahme. Die Drucklegung erfolgt in der Reihenfolge des Einlaufs, insoweit die Korrekturen pünktlich erledigt werden (s. Ziff. 9).

7. Kurze Mitteilungen (bis zu 4 Druckseiten), die als solche zu bezeichnen sind, werden, sofern ihr Inhalt ein besonders rasches Erscheinen rechtfertigt, außerhalb der normalen Reihenfolge in das jeweils nächste Heft aufgenommen. Für Prüfung und Aufnahme gilt sonst Ziff. 6.

8. Grundsätzlich werden nur Arbeiten aufgenommen, die nirgends vorher, weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind; der Autor verpflichtet sich, eine in den Mh. Chem. gedruckte Arbeit auch nachträglich nicht anderswo zu veröffentlichen. Mit der Annahme des Manuskriptes geht das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag über. Es ist ferner nur mit ausdrücklicher Genehmigung des Verlages gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme u. ä. von Heften der Zeitschrift, einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus, z. B. Abbildungen oder Tabellen, herzustellen.

9. Die Verfasser erhalten die Umzeichnungen der Abbildungen und eine Fahnenkorrektur. Die Umzeichnungen sind beschleunigt zu korrigieren; die Fahnenkorrektur ist mit den eingeklebten Ätzabzügen der Abbildungen und dem Manuskript an den Verlag zurückzusenden. Unpünktlichkeit einzelner Autoren in der Erledigung von Korrekturen darf die regelmäßige Ausgabe der Hefte nicht stören: verspätet einlaufende Korrekturen können daher die Einreihung der Arbeit in das nächste Heft zur Folge haben. Korrekturen, die von nachträglichen Änderungen des Manuskripttextes herrühren und 10% der Satzkosten überschreiten, werden dem Autor in Rechnung gestellt. Revisionen werden grundsätzlich nicht geliefert.

10. Die Verfasser erhalten 75 Sonderdrucke unentgeltlich. Bis zur Gesamtzahl von 125 werden Sonderdrucke nur dann geliefert, wenn sie beim Verlag bei der Rücksendung der Fahnen bestellt wurden; die Kosten hiefür sind dort im eigenen Interesse vorher zu erfragen.

11. Zur raschen Veröffentlichung ihrer Arbeiten können die Autoren durch möglichst knappe Fassung der Texte selbst am wirkungsvollsten beitragen.

Die Herausgeber und die Schriftleitung behalten sich ausschließlich das Recht vor, die von ihnen für nötig erachteten Kürzungen und Änderungen in den Texten vorzunehmen, sowie gegebenenfalls die Zusammenfassung mehrerer kürzerer Mitteilungen verwandten Inhalts zur Ersparung von Raum vorzuschlagen.

Herausgeber, Schriftleitung und Verlag

Inhaltsverzeichnis

85. Band / 4. Heft

Physikalische, anorganische und analytische Chemie.

Seite

Abel, E. Wird Autoxydation durch Chlorion katalysiert? 949

Abel, E. Über eine thermische Autoxydation von Sulfit. Wirkungsweise negativer Katalysatoren 1003

Briegleb, G. und **H. Scholze.** Untersuchungen über die Adsorption von Gasgemischen 731

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite

Untersuchungen über die Adsorption von Gasgemischen*.

(Mischadsorption von Aceton-Chloroform-Dämpfen an Mikroglaskügelchen einheitlicher Oberfläche.)

Von

Günther Briegleb und Horst Scholze.

Aus der physikalisch-chemischen Abteilung des Chemischen Institutes der Universität Würzburg.

Mit 18 Abbildungen.

(Eingelangt am 16. April 1954.)

Es werden Mischadsorptionsmessungen am System *Aceton-Chloroform* mit einem Dampfdruckminimum an homogenen Oberflächen an Mikroglaskügelchen (2 bis 12 μ) in einem rel. Druckbereich zwischen 0,1 und 0,9 ausgeführt. Dabei ist der Sättigungsdruck jeweils der Dampfdruck der mit der Gasphase im Adsorptionsgleichgewicht korrespondierenden flüssigen Phase im p_0, γ-Diagramm. Zugleich wurde die Zusammensetzung der adsorbierten Mischphase bestimmt und daraus die partielle Adsorption der Komponenten als Funktion des rel. Druckes bei verschiedener Zusammensetzungen der Gasphase.

Für partielle Adsorption wurde auf der Grundlage eines von *Hill* entwickelten Ansatzes in Verbindung mit einer Gl. von *Theimer* eine Formel aufgestellt, die die experimentellen Ergebnisse gut wiedergibt.

Es werden Adsorptionswärmen für die verschiedenen Belegungsdichten in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der Gasphase bestimmt.

In einer früheren Arbeit wurde über die anomal hohe Adsorption von Hydrazin-Wasser-Mischungen aus dem Dampfzustand an Glasoberflächen berichtet[1]. Bisher liegen nur überraschend wenige systematische Untersuchungen vor, in denen in einem größeren relativen Druckbereich die partielle und die Gesamtadsorption an Gas*mischungen*

* Herrn Prof. *L. Ebert* zum 60. Geburtstag gewidmet.

[1] *G. Briegleb, H. Scholze* und *W. Strohmeier*, Z. physik. Chem. **199**, 15 (1952).

variabler Zusammensetzung gemessen wurde[2]. Eine genaue experimentelle und theoretische Unterbauung der Vorgänge bei der Mischadsorption aus der Gasphase wäre aber in vieler Hinsicht von besonderem Interesse. Bisherige Ansätze zur Theorie der Mischadsorption[3] konnten noch nicht genügend an geeignetem experimentellem Material überprüft werden. Wichtig für eine genaue Beurteilung der Vorgänge bei der Adsorption ist, daß die Adsorptionsmessungen bis in das Gebiet höherer relativer Drucke ausgedehnt werden und sich nicht nur auf den Bereich kleiner relativer Drucke $< 0{,}1$ monomolekularer Belegung beschränken (z. B. *Innes* und *Rowley*) oder auf das Gebiet relativer Drucke von kleiner als bis max. 0,5 bis 0,6, wie es bei den Untersuchungen von *Tomkins-Young*, *Barrer-Robin*, *Kington-Holmes* und anderen der Fall ist. Bei Messungen an Adsorptivkohle (*Innes-Onley* und *Rowley*, *Hitz-Scheller* und *Treadwell*, *Bering-Serpinskič* und anderen) oder an Cr_2O_3-Gel (*White* und *Schneider*) oder an Zeolithen (*Barrer* und *Robin*) treten bei höheren relativen Drucken Kapillarkondensationseffekte auf. Bei der Adsorption an Kristallpulvern (*Arnold*, *Tompkins-Young*) wird eine theoretische Auswertung der Mischadsorption besonders unter Einbeziehung des Gebietes hoher relativer Drucke erschwert durch die Möglichkeit selektiver Adsorption an verschiedenen Kristallflächen.

Keines der uns bekannt gewordenen bisher untersuchten Systeme hatte im P, γ-Phasendiagramm ein Minimum. Gerade an solchen Systemen dürften aber Sonderheiten der Mischadsorption im Vergleich zur Adsorption der reinen Komponenten besonders deutlich zum Ausdruck

---

[2] *W. B. Innes* und *H. H. Rowley*, J. Physic. Coll. Chem. **51**, 1154 (1947), System $CCl_4 + CH_3OH$. — *J. R. Arnold*, J. Amer. Chem. Soc. **71**, 104 (1949), System $N_2 + O_2$ an Anatas bei 78° K. — *L. White*, jr. und *Ch. H. Schneider*, ebenda 2593, System $N_2 + O_2$ und $O_2 + Ar$. an Cr_2O_3—Gel. bei — 185,6°. — *W. B. Innes*, *R. B. Olney* und *H. H. Rowley*, J. Physic. Coll. Chem. **55**, 1324 (1951), System $C_6H_6 + CH_3OH$ an C. — *K. H. Hitz*, *W. Scheller* und *W. D. Treadwell*, Helv. Chim. Acta **34**, 1783 (1951), System H_2, N_2, O_2 jeweils mit CO_2 an C bei 0°, 20° und 40°. — *F. C. Tompkins* und *D. M. Youngs*, Trans. Faraday Soc. **47**, 88 (1951), System $N_2 + CO$ bei 83,6° K und $A + O_2$ bei 77,5° K an CsJ. — *L. White*, *Ch. H. Schneider* und *W. W. Robinson*, J. Amer. Chem. Soc. **74**, 5796 (1952), System Äthan + CO_2 an Cr_2O_3 bei — 78° C. — *R. M. Barrer* und *A. B. Robin*, Trans. Faraday Soc. **49**, 929 (1953), System $H_2 + Ne$, $H_2 + N_2$, $N_2 + O_2$, $A + N_2$ und $A + O_2$ an Chabazit und an einigen Zeolithen bei — 183° C. — *G. L. Kington* und *J. M. Holmes*, Trans. Faraday Soc. **49**, 417, 425 (1953), System $Kr + H_2$ und $Kr + O_2$ an Cu bei 78° K. — *B. P. Bering* und *V. V. Serpinskič*, Chem. Abstr. **47**, 5756 f (1953); Izvest. Acad. Nauk S. S. S. R. Otdel, Khim, Nauk **1952**, 997, System Äthylen und Propylen an C. — *A. B. Chernyskev*, *N. V. Kel-tsev* und *A. L. Khalif*, Doklady Acad. Nauk S. S. S. R. **82**, 75 (1952), System C_3H_8—C_4H_{10} an C bei mehreren Temp. zwischen 20 und 100°.

[3] Literatur zur *Theorie* der Mischadsorption vgl. S. 748.

kommen. Als Modellversuch wurde in der vorliegenden Untersuchung Mischadsorptionsmessungen am System Aceton—Chloroform an Mikroglaskügelchen einheitlicher Größe und definierter Oberfläche bei 10 und 20° C durchgeführt.

Folgende Punkte waren für die Durchführung der Versuche maßgebend:

a) Das System Aceton—Chloroform hat im Phasendiagramm flüssig-dampfförmig ein Minimum.

b) Infolge der verhältnismäßig hohen Dampfdrucke von Aceton und Chloroform waren Kondensationseffekte bei gewöhnlichen Temperaturen weitgehend ausgeschaltet, so daß nicht die gesamte Apparatur zur Messung der Adsorption temperiert werden mußte.

c) Es wird an Glasmikrokügelchen, das heißt an einer einheitlichen Oberfläche adsorbiert. Bei Mikroglaskugeln der hier verwendeten Größe (2 bis 12 μ) braucht mit Kapillarkondensation erst bei relativen Drucken über 0,9 gerechnet zu werden[4].

Die Oberfläche der Mikroglaskugeln ist durch Ausmessen von Mikroaufnahmen genau bestimmbar.

d) Durch Messungen bei zwei Temperaturen können die Adsorptionswärmen berechnet werden.

Darstellung der Substanzen.

Ausgangsmaterialien waren p. a.-Präparate von *Merck*. Das Aceton wurde nach *Walden* und *Birr*[5], das Chloroform nach *Pestemer*[6] gereinigt. Nach Entlüften im Hochvakuum wurden folgende Dampfdrucke gemessen: Aceton bei 10° C: 115,5 Torr; bei 20° C: 184,4 Torr. Chloroform bei 10° C: 99,7 Torr; bei 20° C: 157,9 Torr. Unter Lichtabschluß und über entwässertem K_2CO_3 hielt sich der Dampfdruck des Chloroforms in der Hochvakuumapparatur monatelang unverändert.

Phasendiagramm flüssig-dampfförmig des Systems Aceton—Chloroform.

Da vollständige Meßergebnisse für die beiden Meßtemperaturen 10 und 20° C nicht vorlagen, mußte das Phasendiagramm Aceton—Chloroform bestimmt werden. Dazu diente die Apparatur der Abb. 1.

Es wurde eine stationäre Gleichgewichtsmethode verwendet, die nicht eine der üblichen Methoden mit Verwendung großer Substanzmengen war, sondern zugleich sollte auch ein Verfahren erprobt werden,

---

[4] *J. Holmes* und *P. H. Emmett*, J. Physic. Coll. Chem. **51**, 1262 (1947). — *Shereshefsky* und *Russele*, J. Physic. Chem. **57**, 660 (1953).

[5] *P. Walden* und *E. J. Birr*, J. physik. Chem., Abt. A **153**, 290 (1930).

[6] *M. Pestemer*, Angew. Chem. **63**, 118 (1951).

daß nur relative kleine Substanzmengen benötigt und dabei unter Berücksichtigung einer eventuellen Luft- und Feuchtigkeitsempfindlichkeit unter Luftabschluß arbeitet.

Im Zertrümmerungsapparat Z befindet sich die Ampulle A mit einer bekannten Menge Aceton, das nach dem Zertrümmern nach G_1 destilliert wird. Nach dem Schließen des Stockventils V_1 wird in Z eine Ampulle mit Chloroform eingelegt, das dann ebenfalls nach Auspumpen und Zertrümmern nach G_1 destilliert wird. V_1 wird geschlossen und der Thermostat —

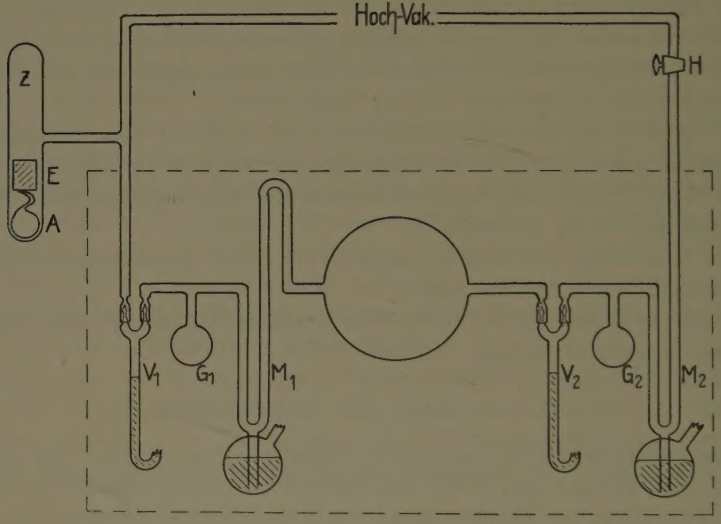


Abb. 1. Apparatur zur Aufnahme von Phasendiagrammen flüssig-dampfförmig.

gestrichelt gezeichnet — auf die Meßtemperatur eingestellt. Die Einstellung des Dampfdruck-Gleichgewichtes wird durch magnetisches Rühren eines in Glas eingeschmolzenen Eisenstäbchens in G_1 beschleunigt. Das Hg steht im linken Schenkel des Manometers M_1 möglichst hoch, so daß das freie Volumen über G_1 möglichst klein ist, damit der durch Veränderung der Zusammensetzung der flüssigen Phase beim Verdampfen verursachte Fehler bei Einstellung des Gleichgewichtes $< 1\%$ ist. Der so gemessene Sättigungsdruck wird mit p_1 bezeichnet.

Nun läßt man in M_2 das Hg steigen und bei geöffnetem Ventil V_2 das Hg in M_1 langsam unter die Verzweigung fallen, wodurch sich die ganze Apparatur mit Dampf füllt. An M_2 wird der erneut sich einstellende Druck p_2 abgelesen.

Läßt man jetzt wieder das Hg in M_1 steigen, so ist die Mischung in G_1 vom rechten Teil der Apparatur abgeschlossen und aller sich rechts von M_1 befindliche Dampf wird nach G_2 kondensiert, V_2 wird danach geschlossen und der Druck p_3 dieser in G_2 kondensierten flüssigen Phase, wiederum bei der höchsten Stellung des Hg, an M_2 abgelesen. Um genügend Substanz zu dieser Messung zu haben, liegt zwischen M_1 und V_2 ein entsprechend dimensioniertes Glasgefäß. Durch Verwendung von Kapillaren zwischen V_2

und M_2 konnte das Volumen so klein gehalten werden, daß auch hier der Fehler der Veränderung der Zusammensetzung der in G_2 befindlichen flüssigen Phase $< 1\%$ war.

Die genannten drei Messungen wurden bei mehreren Einwaagen ausgeführt. Die Drucke p_1 geben die Dampfdrucke der flüssigen Phase von einer durch die Einwaagen bekannten Zusammensetzung[7]. Man erhält auf diese Weise eine Eichkurve, aus der man mit Hilfe eines gemessenen Dampfdruckes die Zusammensetzung γ_{fl} einer beliebigen flüssigen Phase ablesen kann. Aus dieser p, γ_{fl}-Eichkurve sucht man die zu den Dampfdrucken p_2 gehörende Zusammensetzung γ_{fl} der flüssigen Kondensate in G_1 nach Öffnen des Manometerventils M_1. Die Zusammensetzung γ der zu p_2 gehörenden, mit γ_{fl} korrespondierenden Gasphase erhält man aus dem Dampfdruck p_3 des Kondensates in G_2 mit Hilfe der p, γ-Eich-Dampfdruckkurve.

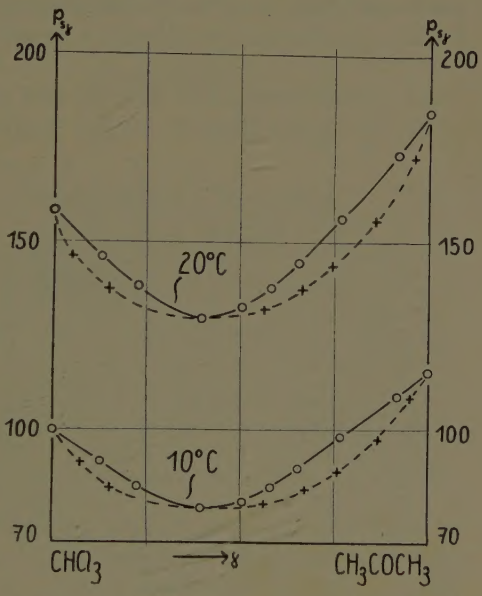


Abb. 2. p, γ-Phasendiagramm von Aceton-Chloroform bei $t = 10°$ und 20° C, γ = Molenbruch Aceton.

p_{s_γ}, γ_{fl} und γ sind in Tab. 1 zu finden. Abb. 2 gibt das daraus konstruierte p, γ-Phasendiagramm der Aceton-Chloroform-Mischungen bei 20° und 10°.

Tabelle 1. p, γ-Phasendiagramm von Aceton-Chloroform bei $t = 10$ und 20° C. (γ = Molenbruch Aceton; p in mm Hg.)

10°			20°		
p	γ	γ_{fl}	p	γ	γ_{fl}
157,9	0,000	0,000	99,7	0,000	0,000
150	0,032	0,073	95	0,036	0,073
140	0,108	0,197	90	0,085	0,148
135	0,195	0,263	85	0,160	0,225
129,6	0,395	0,395	79,3	0,395	0,395
135	0,623	0,577	85	0,690	0,574
140	0,698	0,605	90	0,778	0,657
150	0,809	0,705	95	0,845	0,725
160	0,885	0,798	100	0,892	0,795
170	0,940	0,885	105	0,929	0,862
184,4	1,000	1,000	115,5	1,000	1,000

[7] γ bezieht sich auf Aceton.

Mikroglaskugeln.

Das Mikroglaskugel-Pulver wurde nach einem Verfahren von *Bloomquist* und *Clark*[8] hergestellt, das aber auf Grund der Erfahrungen vieler Versuche modifiziert wurde.

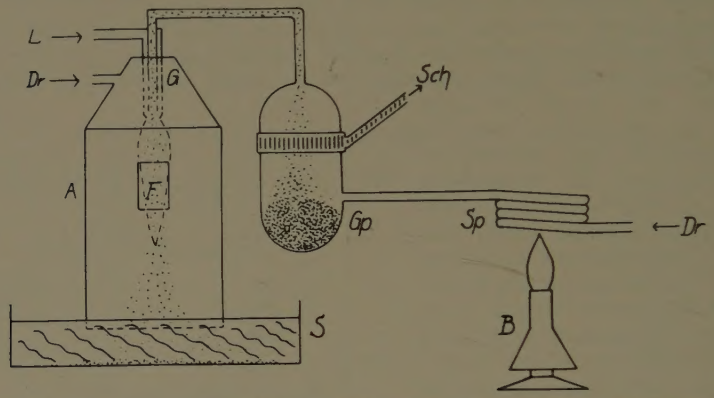


Abb. 3. Anordnung zur Darstellung von Mikroglaskugel-Pulver (Näheres siehe Text).

Glaswolle wurde gepulvert und die größten und kleinsten Anteile durch fraktioniertes Schlemmen abgetrennt. Über das in einem über die Haltevorrichtung *SCH* (Abb. 3) dauernd geschüttelten Kolben befindliche Glaspulver *Gp* wird heiße Druckluft *Dr* geleitet, die durch die erhitzte Kupferspirale *Sp* vorerhitzt wird. Dadurch vermeidet man das Zusammenbacken des Glaspulvers. Je nach Heftigkeit des Schüttelns kann viel oder wenig *Gp* aufgewirbelt werden. Die Druckluft nimmt das Glaspulver in das Innenrohr eines mit Leuchtgas *L* betriebenen Gebläses *G*, das, um ein Verstäuben zu vermeiden, mit einem Aluminium-Blechgehäuse *A* mit Beobachtungsfenster *F* umgeben ist. Man kann unter Umständen auch noch Sauerstoff in das Gehäuse bringen. Das in der Flamme sich

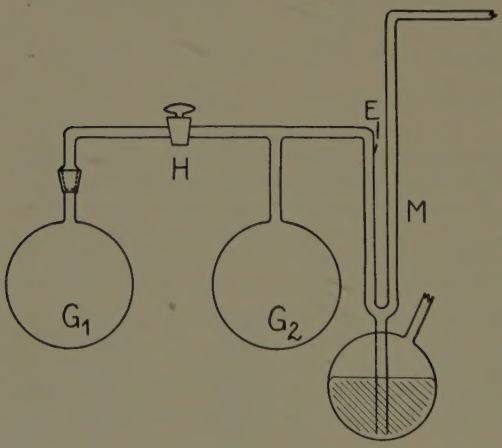


Abb. 4. Anordnung zur Bestimmung der Dichte der Mikroglaskügelchen.

[8] *C. R. Bloomquist* und *A. Clark*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **12**, 61 (1940).

bildende Mikroglaskugel-Pulver wurde auf einer Wasseroberfläche aufgefangen. Es wurde über 100 g Pulver hergestellt und durch fraktionierte Sedimentation in Wasser die gewünschten Größenfraktionen separiert.

Die Dichte der Mikroglaskügelchen wurde mit der Anordnung Abb. 4 bestimmt.

Das Volumen von G_1 und G_2 war bis zum Hahn bzw. bis zur Eichmarke E bekannt. Nach Einwiegen einiger Gramm Glaspulver in G_1 und Auspumpen wird in G_1 trockene Luft bis zum Druck p_1 eingelassen. Der Druck nach Öffnen des Hahnes H sei p_2.

Der Vorgang wurde zur Kontrolle des Adsorptionseinflusses, der — wie sich zeigte — ausgeschlossen werden konnte, auch in umgekehrter Reihenfolge $G_2 \rightarrow G_1$ mehrfach wiederholt. Als Mittelwert aller Messungen ergab sich mit ausreichender Genauigkeit die Dichte $\varrho = 2{,}29 \pm 1\%$.

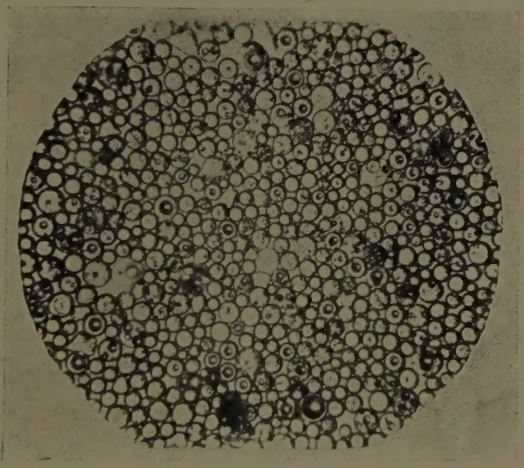


Abb. 5. Mikroglaskügelchen bei 326facher Vergrößerung.

Die mittlere Oberfläche der Mikroglaskugeln wurde von mehreren, dem Vorrat neu entnommenen Proben durch mikroskopisches Ausmessen von zirka 1000 Kugeln bestimmt. Abb. 5 zeigt eine Aufnahme bei 326facher Vergrößerung, die Ausmessungen wurden bei zirka 600facher Vergrößerung vorgenommen.

Der Durchmesser der Kügelchen, die zur Adsorption verwandt wurden, lag bei zirka 2 bis 12 μ. Die Oberfläche ergab sich nach der Formel

$$O = \frac{3 \cdot \left(\frac{1}{\varkappa} \cdot \frac{1}{20}\right)^2}{\left(\frac{1}{x} \cdot \frac{1}{20}\right)^3} \cdot \frac{\Sigma_i n_i d_i^2}{\Sigma_i n_i d_i^3} \cdot \frac{G}{\varrho} = 60 \cdot \chi \cdot q \cdot \frac{G}{\varrho} \text{ cm}^2$$

zu $O = 4589$ qcm pro g. Dabei bedeutet χ die Vergrößerung, G die Gewichtsmenge Glaspulver und n_i die Zahl der Kügelchen vom Durchmesser d_i pro G Gramm, q ist der Quotient der Summen und ϱ die Dichte.

Adsorptionsmessungen.

Die Adsorptionsmessungen erfolgten in der Apparatur Abb. 6.

$V_{1,2,3,4,7,8}$ sind *Stock*-Quecksilberventile. V_5 und V_6 sind zwei *Stock*-Ventile mit verlängertem Schenkel. M_1 und M_2 sind zwei nach dem *McLeod*-Prinzip angeordnete Manometer mit den Eichmarken E_1 und E_2. G_1 ist eine Glaskugel von ungefähr 300 ccm, die nur zur Volumenvergrößerung dient. Die kleinen Kugeln $G_{2,3,4,5}$ dienen zur Kondensation der Substanzen, um diese von einem Bereich in einen anderen zu überführen. A_1 und A_2 sind zwei Adsorptionsgefäße. In ihnen befinden sich die Mikroglaskugeln, in A_1 39,7 g, in A_2 55,5 g. Um ein Verstäuben zu vermeiden, sind sie oben mit einem kleinen Stopfen Glaswolle gedichtet. Diese zusätzliche Oberfläche ist bei der großen Oberfläche der Glaskugeln ohne Bedeutung.

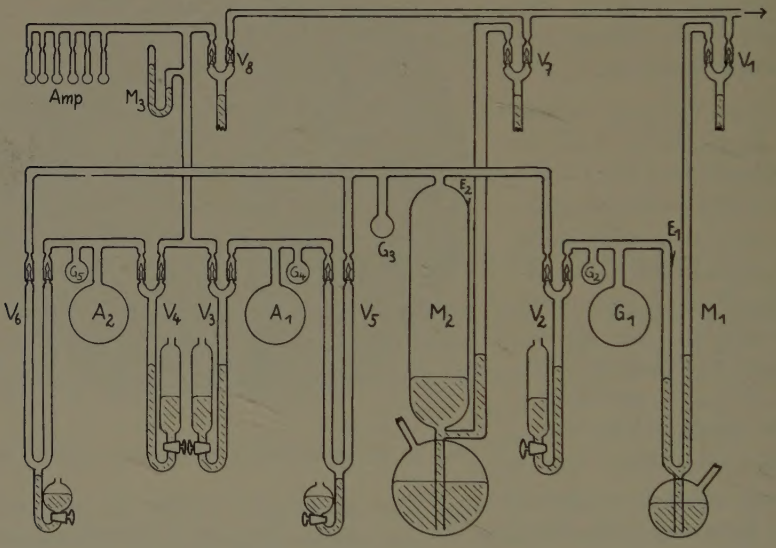


Abb. 6. Apparatur zur Mischadsorptionsmessung.

M_3 ist ein abgekürztes Kontrollmanometer. *Amp* sind einige Abschmelzkügelchen.

Alle Volumina waren entweder vor dem Zusammenblasen der Apparatur mit Hg ausgewogen worden oder nachher durch sorgfältig getrocknete Luft durch $p \cdot v$-Bestimmungen geeicht worden.

Das jeweils gerade verwendete Adsorptionsgefäß befand sich in einem *Dewar*-Gefäß als Thermostaten, dessen Temperatur auf $\pm$ 0,05° konstant gehalten wird. Außerdem wurde ständig die Außentemperatur konstant gehalten.

Zur Reinigung der Oberfläche der Mikroglaskugeln wurden die Adsorptionsgefäße einen Tag bei 400° C abgepumpt. Anschließend wurde die Oberfläche der Mikroglaskugeln mit Aceton gesättigt und wiederum mehrere Stunden bei 400° C abgepumpt. Nachdem dieses Verfahren mehrmals wiederholt worden war, konnte die Apparatur längere Zeit bis auf höchstes Vakuum gehalten werden, ein Zeichen dafür, daß letzte Spuren an der Glasoberfläche adsorbierten Wassers entfernt waren.

Zur Messung der Mischadsorption wird über V_1 und bei geöffnetem M_1 in M_1, G_1, G_2 ein bestimmter Druck der Komponente (1) eingestellt und ebenso über V_7 ein bestimmter Druck von (2) in M_2 und G_3. Alle anderen Ventile sind geschlossen und nach Schließen von M_1 und M_2 ergaben sich aus den Drucken an M_1 bzw. M_2 und den entsprechenden Volumina die Ausgangsmengen der Komponenten (1) und (2). Bei geöffnetem V_2 werden dann beide Substanzen nach G_3 kondensiert. Durch Öffnen von V_5 — V_3 und V_6 bleiben geschlossen — kann sich nach Verdampfen des Gemisches das Adsorptionsgleichgewicht in A_1 einstellen. Die langsame Gleichgewichtseinstellung kann durch die allmähliche Druckabnahme an M_2 verfolgt werden. Im allgemeinen war das Gleichgewicht nach 1 Std. erreicht. Es wurde aber immer 2 Stdn. gewartet. Bei relativen Drucken um 0,9 war die Druckkonstanz erst wesentlich später erreicht. Nach Druckkonstanz wird das eigens zweckmäßig verlängerte Ventil V_5 zur Hälfte geschlossen. Damit sich keine Substanz beim Anschlagen der Ventilschwimmer unterhalb der Schwimmer kondensiert, werden die Gefäße G_3 und G_4 in Kältebäder getaucht, bevor das Ventil vollständig geschlossen wird. Durch Öffnen von V_3 und geschlossenem V_4 kann nun die adsorbierte Substanz zusammen mit dem im freien Volumen von A_1 befindlichen Gas nach einer der kleinen Abschmelzampullen kondensiert werden. An M_3 kann man dabei die vollständige Kondensation verfolgen, die durch 1stündiges Erwärmen von A_1 auf 300° unterstützt wird. Nach dem Abschmelzen der Ampulle wird über V_8 A_1 bei 400° von restlichen minimalen Gasspuren befreit.

Während des Desorbierens und Absaugens kann man in analoger Weise über V_6 im zweiten Adsorptionsgefäß A_2 bereits ein neues Gleichgewicht einstellen lassen.

Die abgeschmolzenen Ampullen werden zertrümmert und das in ihnen enthaltene Aceton nach *Bauer*[9] jodometrisch bestimmt.

Zur Auswertung der an M_1 bzw. M_2 abgelesenen Adsorptionsdrucke zur Berechnung der Zusammensetzung der Gasphase und der flüssigen Phase müssen eine Reihe von Volumina bekannt sein, z. B.:

V_{M_1} Volumen vom M_1 bis zum geschlossenen Ventil V_2.

V_{M_2} Volumen vom M_2 bei geschlossenen Ventilen V_2, V_5 und V_6.

$V_{M_2+A_1}$ = Volumen des Manometers M_2 + freies Volumen von A_1 bei geschlossenem V_2 und V_4 und geöffneten V_5.

Die Volumenbestimmung geschah mit Luft, die mit P_2O_5 getrocknet war, durch $p\,v$-Bestimmungen unter Verwendung von M_2, das die größte Meßgenauigkeit hatte. Man bekommt Ausdrücke der Form $V_i = c_i\, l_i + K_i$, wobei K_i Volumengrößen sind, die die jeweiligen Volumina oberhalb der Eichmarken E_1 bzw. E_2 angeben.

$c_i = c_1$ bzw. c_2 sind die Querschnitte von M_1 und M_2, l_1 und l_2 sind die Entfernungen der Quecksilbermenisken von den Eichmarken E_1 und E_2 der Manometer M_1 und M_2.

Zum Beispiel ergab sich für V_{M_2} und V_{M_1}

$$V_{M_2} = c_2\, l_2 + 46{,}0 \text{ ccm},$$
$$V_{M_1} = c_1\, l_1 + 300{,}5 \text{ ccm}$$

[9] *K. H. Bauer*, Die organische Analyse, S. 212. Leipzig. 1945.

und die entsprechenden Ausdrücke für die weiteren für eine Auswertung zu berücksichtigenden Volumina.

Insgesamt erhält man zur Auswertung einer Messung folgende Daten:

a = Molzahl Aceton im Meßvolumen V_{M_1} bzw. V_{M_2} vor der Adsorption, = „Einwaage" Aceton.

b = Molzahl Chloroform im Meßvolumen V_{M_1} bzw. V_{M_2} vor der Adsorption, = „Einwaage" Chloroform.

n_{ges} = Molzahl, die insgesamt adsorbiert wird und die sich aus der Differenz der $p\,V$-Produkte berechnen läßt:

$$n_{ges} = p'\,V_{M_2} - p''\,V_{M_2} + A_1,$$

p' ist der Druck vor dem Öffnen von V_5, p'' ist der Gleichgewichtsdruck nach dem Öffnen von V_5.

d = Molzahl des Restgases in V_{M_2} nach Schließen von V_5.

e = Molzahl des Restgases im freien Volumen von A_1, berechnet aus dem Gleichgewichtsdruck nach Einstellen des Adsorptionsgleichgewichtes.

g = Molzahl des titrierten Acetons in der Abschmelzampulle nach Kondensation des adsorbierten Gases und des im freien Volumen von A_1 befindlichen Gases in die Abschmelzampulle.

Aus diesen Definitionen ergibt sich

$$a + b = n_{ges} + d + e.$$

Der Molenbruch des Acetons in der Gasphase nach Einstellen des Adsorptionsgleichgewichtes berechnet sich zu

$$\gamma = \frac{a - b}{d}.$$

Die Molzahlen der adsorbierten Einzelkomponenten sind

$$n_{Ac} = g - \gamma \cdot e \quad \text{und} \quad n_{Chl} = n_{ges} - n_{Ac}.$$

Damit ist auch der Molenbruch der adsorbierten Phase gegeben:

$$\gamma_{Ac.,\,ads.} = \frac{g - \gamma \cdot e}{n_{ges}}.$$

Der maximale relative Fehler der Messungen betrug bei ungünstigen Verhältnissen (kleine Drucke und kleine Molenbrüche) in $\gamma = 4\%$, in $n_{Ac} = 6\%$, in $n_{Chl} = 8\%$. Im allgemeinen war aber der Fehler wesentlich geringer.

Meßergebnisse.

1. Die reinen Komponenten.

Zunächst wurden die Adsorptionsisothermen der beiden reinen Komponenten bei 10 und 20° C aufgenommen. Dabei kann man natur-

gemäß das eben beschriebene Meßverfahren entsprechend vereinfachen. Die Meßergebnisse bringt Tabelle 2.

Tabelle 2. Adsorption von Aceton und Chloroform an Mikroglaskugeln als Funktion des relativen Druckes. (x = relative Drucke, n = adsorbierte Mole pro Gramm Glaskügelchen.)

Aceton				Chloroform			
10° C $p_0 = 115{,}5$		20° C $p_0 = 184{,}4$		10° C $p_0 = 99{,}7$		20° C $p_0 = 157{,}9$	
x	$n \cdot 10^6$	x	$n \cdot 10^6$	x	$n \cdot 10^6$	x	$n \cdot 10^6$
—	—	0,050	3,09	0,053	1,67	0,050	1,62
0,099	3,48	0,100	3,41	0,101	2,14	0,100	2,04
0,151	3,66	0,151	3,67	0,152	2,43	0,150	2,32
0,182	3,82	0,200	3,89	0,202	2,68	0,200	2,56
0 301	4,47	0,300	4,31	0,303	3,11	0,300	2,96
0,404	4,91	0,400	4,73	0,403	3,45	0,400	3,33
0,502	5,47	0,500	5,40	0,508	3,83	0,500	3,79
0,581	6,11	0,600	6,29	0,605	4,41	0,600	4,35
0,702	7,32	0,700	7,92	0,714	5,34	0,700	5,17
0,796	9,66	0,800	10,45	0,804	6,99	0,800	6,83
0,906	14,92	0,900	15,00	0,910	10,21	0,900	9,79

2. Mischsystem.

Im Falle einer Mischadsorption aus der Gasphase interessieren folgende Größen:

1. Die Gesamtadsorption als Funktion des relativen Druckes jeweils bei einem bestimmten prozentualen Mischungsverhältnis der Komponenten in der Gasphase. Als Sättigungsdruck gilt für ein bestimmtes Mischungsverhältnis γ der diesem entsprechende Kondensationsdruck $p_{s\gamma}$ im p, γ-Diagramm.

2. Die partielle Adsorption n_A und n_B der Komponenten A und B als Funktion des relativen Druckes $x = \frac{p}{p_{s\gamma}}$ in der Gasphase im Adsorptionsgleichgewicht (vgl. Definitionen S. 742 ff.).

3. Das prozentuelle Mischungsverhältnis in der Adsorptionsphase und in der korrespondierenden Gasphase bei jeweils verschiedenen Adsorptionsdrucken.

Da die adsorbierte Phase eine andere Zusammensetzung als die der Gasphase hat, wird sich die Zusammensetzung der Gasphase von der Einwaagezusammensetzung vor der Adsorption unterscheiden. Es ist nun möglich, durch die Wahl der Einwaagen und des Druckes — durch Heben oder Senken des Hg-Meniskus in M_2 in Abb. 6 — grob den Druckbereich auszuwählen, den man messen will. Den Sättigungsdruck $p_{s\gamma}$ kann man ebenfalls nicht konstant halten, da er sich nach der Gasphase

richtet, deren Zusammensetzung sich aber — wie eben beschrieben — während des Adsorptionsversuches ändert.

Um die Adsorption des binären Systems vollständig in allen Bereichen durchmessen zu können, in Abhängigkeit von x und γ, wird zur Darstellung der Meßpunkte für jede der beiden Meßtemperaturen ein Koordinatennetz angelegt, dessen Abszisse der relative Druck x und dessen Ordinate der Molenbruch γ der Gasphase ist. An jeden Meßpunkt wurden die insgesamt adsorbierte Molzahl n_{ges} und deren Anteil n_A an Aceton eingetragen. Durch lineare Interpolation zwischen zwei benachbarten Meßpunkten wurden dann die Werte für die einfachen Molenbrüche 0,1, 0,2 . . . 0,9 erhalten. Diese Werte zeigt Tabelle 3.

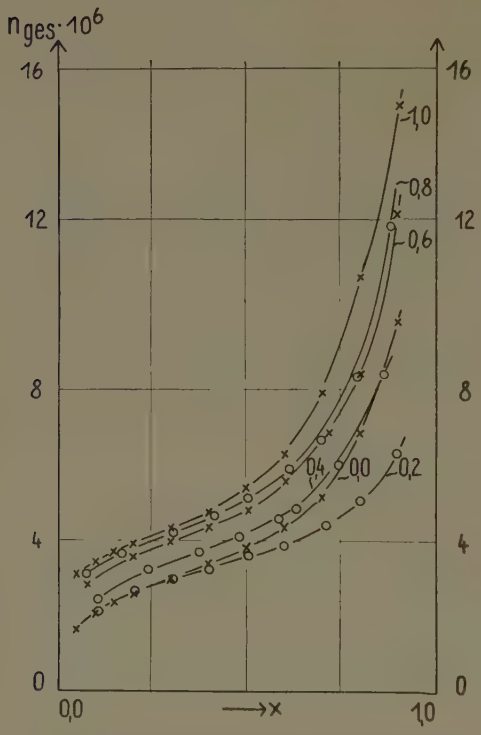


Abb. 7. Gesamtadsorption von Aceton + Chloroform an Mikroglaskügelchen bei 20° für verschiedene Molenbrüche γ der Gasphase als Funktion des relativen Druckes x.

In Abb. 7 sind die *insgesamt* pro g adsorbierten Mole $A + B$ als Funktion des relativen Sättigungsdruckes x für verschiedene Molenbrüche γ der Gasphase dargestellt. Dabei bezieht sich 1,0 auf reines Aceton und 0,0 auf reines Chloroform.

In Abb. 8 und 9 sind die partiell adsorbierten Mole an Aceton bzw. an Chloroform in Abhängigkeit vom relativen Druck x bei verschiedenen Molenbrüchen γ der Gasphase im Adsorptionsgleichgewicht dargestellt.

Diskussion der Meßergebnisse.

Einige Definitionen.

Adsorption eines monomeren Systems.

p_0 Dampfdruck.

p beliebiger Druck, bei dem das Adsorptionsgleichgewicht sich einstellt.

$x = p/p_0$ relativer Druck, bezogen auf den Dampfdruck der reinen Komponente.

n_a absorbierte Molzahl pro g Adsorbens.

n_1 adsorbierte Molzahl in der ersten Schicht pro g Adsorbens.

Adsorption eines binären Systems A, B.

p_A und p_B Partialdrucke der Komponenten A und B in einer Gasmischung der Zusammensetzung γ im Adsorptionsgleichgewicht beim Gesamtdruck p.

γ Molenbruch von A in der *Gasphase* im Adsorptionsgleichgewicht beim Gesamtdruck p.

γ_i Molenbruch von A in der „i"-ten Adsorptionsschicht.

Tabelle 3. Adsorption von Aceton + Chloroform als Funktion des relativen Druckes an Mikroglaskugeln. (Alle Molzahlangaben in 10^{-6} und pro Gramm Kugeln.)

	$\gamma = 0{,}1$; $p_{s\,\gamma} = 140{,}8$			$\gamma = 0{,}2$; $p_{s\,\gamma} = 134{,}8$			$\gamma = 0{,}3$; $p_{s\,\gamma} = 130{,}7$		
	x	$n_{ges.}$	$n_{Ac.}$	x	$n_{ges.}$	$n_{Ac.}$	x	$n_{ges.}$	$n_{Ac.}$
20° C	0,100	2,10	0,17	0,105	2,10	0,42	0,127	2,38	0,89
	0,160	2,41	0,13	0,203	2,65	0,41	0,217	2,83	0,85
	0,230	2,69	0,11	0,303	2,96	0,46	0,309	3,15	0,92
	0,326	2,96	0,11	0,400	3,21	0,55	0,404	3,42	1,00
	0,409	3,23	0,14	0,504	3,59	0,62	0,504	3,81	1,08
	0,507	3,48	0,17	0,599	3,85	0,62	0,602	4,24	1,19
	0,608	3,94	0,18	0,710	4,40	0,63	0,755	5,41	1,48
	0,707	4,44	0,20	0,800	5,05	0,73	0,870	6,83	2,09
	0,800	5,24	0,26	0,896	6,31	1,13			
	0,892	6,44	0,46						

	$\gamma = 0{,}4$	$p_{s\,\gamma} = 129{,}6$		$\gamma = 0{,}5$	$p_{s\,\gamma} = 130{,}6$		$\gamma = 0{,}6$	$p_{s\,\gamma} = 133{,}6$	
	0,106	2,43	1,20	0,075	2,52	1,52	0,080	2,81	1,96
	0,240	3,21	1,58	0,178	3,17	1,86	0,201	3,54	2,49
	0,375	3,67	1,58	0,260	3,50	1,97	0,300	3,94	2,63
	0,480	4,08	1,63	0,387	4,06	2,28	0,400	4,34	2,95
	0,586	4,57	1,92	0,483	4,45	2,44	0,505	4,79	3,23
	0,631	4,84	2,06	0,590	5,06	2,77	0,606	5,56	3,72
	0,743	5,98	2,54	0,641	5,29	2,83	0,719	6,85	4,37
	0,863	8,38	3,52	0,740	6,68	3,63	0,804	8,40	5,32
				0,835	8,61	4,46	0,898	12,14	6,92
				0,885	10,56	5,25			

	$\gamma = 0{,}7$	$p_{s\,\gamma} = 140{,}4$		$\gamma = 0{,}8$	$p_{s\,\gamma} = 149{,}2$		$\gamma = 0{,}9$	$p_{s\,\gamma} = 162{,}5$	
	0,080	3,02	2,33	0,075	3,09	2,62	0,080	3,23	3,04
	0,191	3,66	2,18	0,170	3,69	2,99	0,165	3,65	3,35
	0,306	4,13	3,23	0,305	4,19	3,58	0,302	4,25	3,95
	0,412	4,55	3,58	0,415	4,63	4,00	0,404	4,65	4,44
	0,506	5,01	4,01	0,502	5,11	4,50	0,508	5,23	5,00
	0,610	5,77	4,58	0,613	5,87	5,18	0,602	6,05	5,72
	0,706	6,63	5,12	0,698	6,62	5,59	0,702	6,68	6,28
	0,799	8,58	6,28	0,794	8,31	7,04	0,800	8,83	8,25
	0,891	11,75	8,28	0,880	11,82	9,54	0,891	11,94	10,71

(Fortsetzung der Tabelle 3.)

	$\gamma = 0{,}1$	$p_{s\gamma} = 88{,}7$		$\gamma = 0{,}2$	$p_{s\gamma} = 83{,}0$		$\gamma = 0{,}3$	$p_{s\gamma} = 80{,}0$	
10° C	0,102	2,18	0,27	0,100	2,21	0,52	0,115	2,35	0,83
	0,190	2,61	0,28	0,194	2,63	0,61	0,213	2,83	0,94
	0,313	3,02	0,20	0,311	3,07	0,56	0,304	3,21	1,05
	0,410	3,39	0,20	0,413	3,31	0,56	0,405	3,32	1,09
	0,510	3,65	0,28	0,507	3,59	0,65	0,508	3,82	1,16
	0,607	4,03	0,31	0,619	3,95	0,66	0,605	4,22	1,31
	0,714	4,55	0,33	0,708	4,41	0,83	0,710	4,76	1,45
	0,800	5,44	0,36	0,810	5,06	0,99	0,805	5,62	1,81
	0,900	6,93	0,65	0,905	6,17	1,13	0,925	8,34	2,52
	$\gamma = 0{,}4$	$p_{s\gamma} = 79{,}3$		$\gamma = 0{,}5$	$p_{s\gamma} = 79{,}7$		$\gamma = 0{,}6$	$p_{s\gamma} = 81{,}3$	
	0,095	2,55	1,42	0,092	2,75	1,80	0,101	3,05	2,26
	0,227	3,15	1,50	0,201	3,36	2,03	0,200	3,58	2,49
	0,305	3,52	1,59	0,290	3,74	2,17	0,277	3,95	2,65
	0,404	3,92	1,80	0,400	4,19	2,41	0,405	4,53	3,10
	0,505	4,22	1,88	0,500	4,64	2,60	0,492	4,85	3,24
	0,606	4,70	2,04	0,597	5,19	2,89	0,600	5,56	3,73
	0,700	5,33	2,28	0,704	6,15	3,38	0,696	6,62	4,25
	0,806	7,05	3,00	0,795	8,23	4,26	0,800	8,74	5,40
	0,898	9,25	3,63	0,890	10,77	5,30	0,900	11,87	7,24
	$\gamma = 0{,}7$	$p_{s\gamma} = 85{,}4$		$\gamma = 0{,}8$	$p_{s\gamma} = 91{,}4$		$\gamma = 0{,}9$	$p_{s\gamma} = 100{,}9$	
	0,110	3,33	2,71	0,105	3,35	2,93	0,100	3,43	3,20
	0,207	3,74	2,91	0,207	3,84	3,27	0,200	3,88	3,59
	0,299	4,22	3,18	0,317	4,49	3,68	0,310	4,52	4,13
	0,410	4,72	3,58	0,410	4,81	3,96	0,395	4,93	4,41
	0,500	5,12	3,92	0,516	5,38	4,55	0,507	5,39	4,87
	0,601	5,77	4,41	0,603	5,94	5,03	0,604	6,13	5,50
	0,699	7,02	5,18	0,703	7,42	6,11	0,690	7,50	6,74
	0,800	9,10	6,54	0,794	9,24	7,58	0,791	9,46	8,58
	0,903	12,48	8,87	0,900	12,67	10,14	0,871	12,13	10,57

γ_{fl} Molenbruch in der flüssigen Phase, die gemäß dem p, γ-Diagramm mit Dampf der Zusammensetzung γ im Gleichgewicht steht.

γ_A, ads Molenbruch der Komponente A in der adsorbierten Phase.

$p_{s\gamma}$ Sättigungs-Kondensationsdruck im p, γ-Diagramm entsprechend einer Zusammensetzung γ des Dampfes im Adsorptionsgleichgewicht.

p_{sA} und p_{sB} *Sättigungs*-Partialdrucke von A und B im gesättigten Dampf der Mischung der Zusammensetzung

$$p_{sA} = \gamma \cdot p_{s_\gamma}, \qquad p_{sB} = (1 - \gamma)\, p_s.$$

$x = p/p_{s_\gamma}$ relativer Gesamtadsorptionsdruck, bezogen auf den Kondensations-Sättigungsdruck p_{s_A}. Es ist aber auch

$$x = \frac{p \cdot \gamma_A}{p_{s_\gamma} \gamma_A} = \frac{p \cdot \gamma_B}{p_s \gamma_B} = \frac{p_A}{p_{s_A}} = \frac{p_B}{p_{s_B}},$$

das heißt x ist zugleich auch adäquat dem relativen partiellen Adsorptionsdruck, unter dem im Adsorptionsgleichgewicht die adsorbierte Komponente steht.

$x_A = p_A/p_{0_A}$ relativer partieller Adsorptionsdruck, bezogen auf den Dampfdruck der *reinen* Komponente.

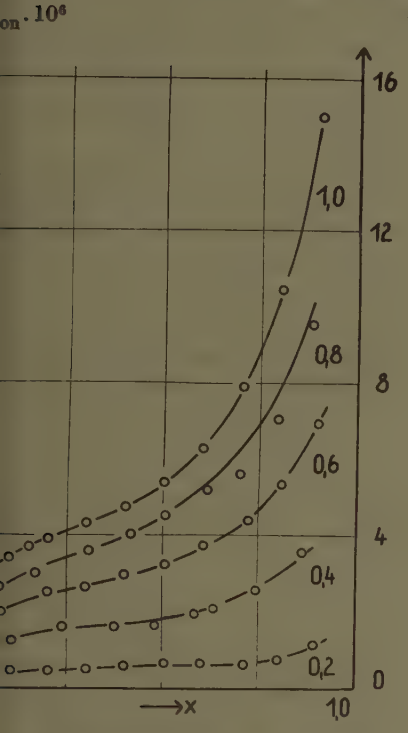


Abb. 8. Partielle Adsorption von Aceton an Mikroglaskügelchen bei 20° als Funktion des relativen Druckes x im Adsorptionsgleichgewicht mit Aceton-Chloroform-Dampf der Zusammensetzung $\gamma = 1$, 0,8, 0,6, 0,4 und 0,2, bezogen auf Aceton.

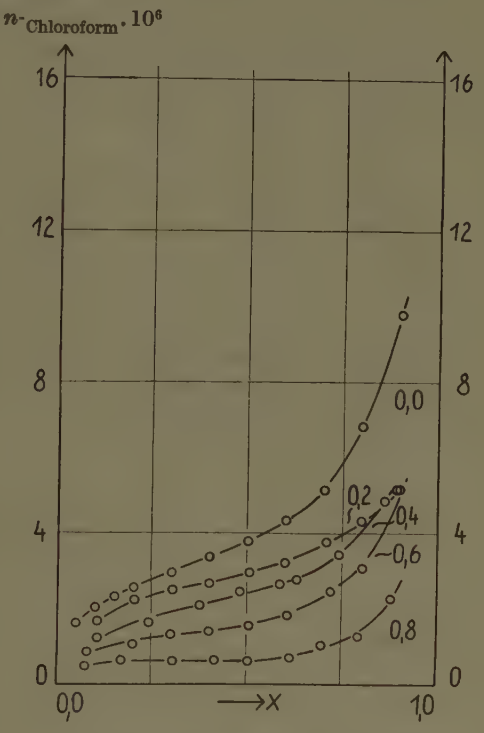


Abb. 9. Partielle Adsorption von Chloroform an Mikroglaskügelchen bei 20° als Funktion des relativen Druckes x im Adsorptionsgleichgewicht mit Aceton-Chloroform-Dampf der Zusammensetzung $\gamma = 0{,}8$, 0,6, 0,4, 0,2 und 0,0, bezogen auf Aceton.

n_{ges} die *insgesamt* beim Druck p adsorbierten Mole $A + B$ pro g.

n_A und n_B die *partiell* beim Druck p adsorbierten Mole A bzw. B pro g.

n_1 adsorbierte Molzahl $A + B$ bei vollständiger Belegung der ersten Adsorptionsschicht pro g Adsorbens.

Gesamtmischadsorption.

Wie schon eingangs der Arbeit hervorgehoben, liegt nur sehr wenig experimentelles Material vor über Mischadsorption an definierten Ober-

flächen und unter Ausschluß von Kapillarkondensation bis in Bereiche höherer relativer Drucke. Die Mischadsorption an Systemen mit einem Minimum im p, γ-Phasendiagramm wurden bisher unseres Wissens überhaupt noch nicht untersucht. Es ist daher auch noch nicht möglich gewesen, die in jüngster Zeit entwickelten theoretischen Ansätze über Mischadsorption an einem genügend gesicherten und umfangreichen experimentellen Material zu prüfen. Auch die in dieser Arbeit zum ersten Male an einem System mit einem Minimum im p, γ-Diagramm gewonnenen Ergebnisse über Mischadsorption können vorerst nur Perspektiven aufzeichnen für die Entwicklung einer erweiterten Theorie der Mischadsorption, solange nicht Meßergebnisse an weiteren ähnlichen solchen Systemen vorliegen.

Man wird bei der Entwicklung einer brauchbaren Theorie der Mischadsorption von entsprechenden Ansätzen für die Adsorption *reiner* Stoffe ausgehen. Dabei ist aber wesentlich, daß in den theoretischen Formeln nicht zu viele Konstanten als Parameter auftreten, da sonst eine Übertragung und Anwendung auf die Mischadsorption nicht möglich ist.

Es soll zunächst geprüft werden, ob die Ansätze von *Brunauer, Emmett* und *Teller (BET)*[10] und von *Hüttig*[11] über die Adsorption reiner Substanzen die Meßergebnisse an reinem Chloroform und reinem Aceton befriedigend wiedergeben.

Es gilt: *BET*

$$\frac{n_a}{n_1} = \frac{c\,x}{(1-x)(1-x+c\,x)} \tag{1}$$

bzw.

$$\frac{x}{n_a(1-x)} = \frac{1}{c\,n_1} + \frac{x}{n_1}. \tag{1a}$$

Hüttig

$$\frac{n_a}{n_1} = \left(\frac{c\,x}{1+c\,x}\right)(1+x) \tag{2}$$

bzw.

$$\frac{x}{n_a}(1+x) = \frac{1}{c\,n_1} + \frac{x}{n_1}. \tag{2a}$$

Beide Gleichungen sind nur gültig im Bereiche $0{,}05 < x < 0{,}3$. Man kann aber aus ihnen n_1 und c berechnen. Aus n_1 läßt sich bei bekannter Oberfläche der Oberflächenbedarf S eines Moleküls berechnen. Mit der Größe c können Energiebetrachtungen angestellt werden. Zur Auswertung benutzt man die Gl. (1a) und (2a). Trägt man $x/n_a(1-x)$ bzw. $x(1+x)/n_a$ gegen x auf, so müßte man Geraden bekommen.

---

[10] *St. Brunauer, P. H. Emmett* und *E. Teller*, J. Amer. Chem. Soc. **60**, 309 (1938).

[11] *G. F. Hüttig*, Mh. Chem. **78**, 177 (1948).

In Abb. 10 ist x gegen $\frac{x}{n_a\,(1-x)}$ und in Abb. 11 x gegen $\frac{x}{n_a}(1+x)$ aufgetragen. Man sieht aus dem Verlauf der gestrichelten Geraden, daß die *BET*- und die *Hüttig*-Adsorptionsisothermen in der Tat nur bis $x < 0{,}3$ Gültigkeit haben.

Die gestrichelten Geraden entsprechen der Theorie, die Kreise sind Meßwerte.

Aus den theoretischen Geraden der Abb. 10 und 11 kann n_1, c und der mittlere Oberflächenbedarf S eines adsorbierten Moleküls berechnet werden, da die Ober-

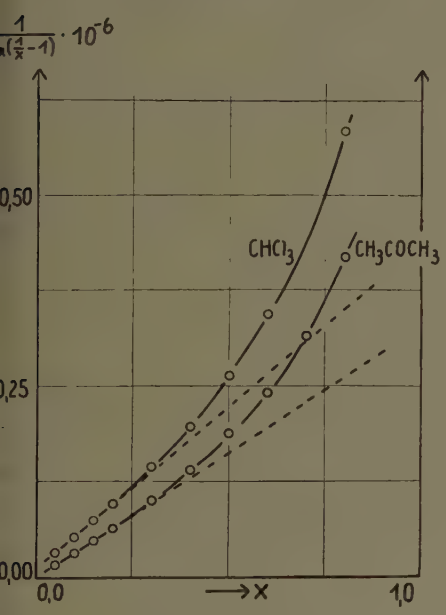


Abb. 10. $\frac{1\cdot 10^{-6}}{n_a\left(\frac{1}{x}-1\right)}$ gegen x nach *BET* für Aceton und für Chloroform bei $t = 20°$.

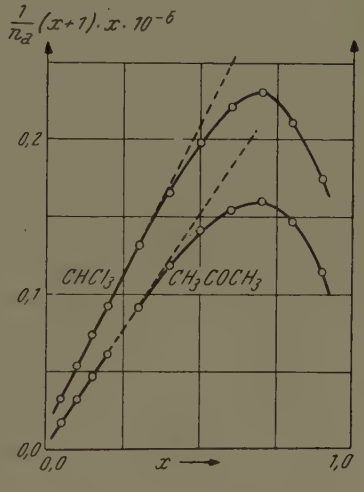


Abb. 11. $\frac{x}{n_a}(x+1)\cdot 10^{-6}$ gegen x nach *Hüttig* für Aceton und für Chloroform bei $t = 20°$.

läche der Mikroglaskügelchen bekannt ist. Die S-Werte für Aceton und Chloroform sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Über die Berechnung nach *Theimer* vgl. Näheres S. 749.

Außerdem sind die S nach einer von *Emmett* und *Brunauer*[12] abgeleiteten Gl. (1b) berechnet und in Tabelle 4 angegeben. Die Abweichungen liegen innerhalb der Fehler solcher Berechnungen

$$S = 4\cdot 0{,}866\,(M/4\sqrt{2}\cdot N_1\cdot\varrho)^{2/3}. \qquad (1\,b)$$

M ist das Molgewicht, N_1 die *Loschmidt*sche Zahl, ϱ die Dichte der Flüssigkeit bei der Untersuchungstemperatur.

[12] *P. H. Emmett* und *St. Brunauer*, J. Amer. Chem. Soc. **59**, 1553 (1937).

In den letzten Jahren sind eine Reihe von Ansätzen zur Theorie der Adsorptionsvorgänge reiner Stoffe im Gebiete *höherer relativer Drucke* gemacht worden. *Hill*[13], *Halsey*[14], *Cook* und *Pack*[15], *Hüttig* und *Theimer*[16], *Theimer*[17], *Barrer* und *Robins*[18], *Anderson*[19], *Cook*[20], *McMillan*[21], *Smith* und *Pierce*[22], *Picket*[23], *Keenan*[24], *Duncan*[25], *Walker* und *Zettlemayer*[26], *Troesk*[27], *Robins*[28], *Balazs*[29], *Taylor* und *Princeton*[30], *Fergusson* und *Barrer*[31], *Tomohiko*[32] und *Schreiner* und *Kemball*[33].

Tabelle 4. Vergleich der Adsorptionskonstanten aus verschiedenen Adsorptionsformeln. Aceton und Chloroform bei 20° C.

	Aceton			Chloroform		
	c	n_1	S	c	n_1	S
Nach *BET*	133	3,08	24,7	33,3	2,39	31,8
Nach *Hüttig* ...	147	3,39	22,5	30,2	2,55	29,8
Nach *Theimer* .	112	3,38	22,6	33,6	2,48	30,6
Nach Gl. (1 b) .			26,9			28,4

Die meisten Ableitungen gehen von den Gleichungen von *BET* und *Hüttig* als Grundlage aus.

---

[13] *T. L. Hill*, J. Chem. Physics **14**, 263, 441 (1946); J. Amer. Chem. Soc. **72**, B 347 (1950); Trans. Faraday Soc. **47**, 376 (1951).

[14] *G. Halsey*, J. Chem. Physics **16**, 931 (1948).

[15] *M. A. Cook* und *D. H. Pack*, J. Amer. Chem. Soc. **71**, 791 (1949).

[16] *G. F. Hüttig* und *O. Theimer*, Kolloid-Z. **119**, 68 (1950).

[17] *O. Theimer*, Trans. Faraday Soc. **48**, 326 (1952); Kolloid-Z. **121**, 54 (1951); Mh. Chem. **81**, 1120 (1951).

[18] *R. M. Barrer* und *A. B. Robins*, Trans. Faraday Soc. **47**, 773 (1951). — *R. M. Barrer*, J. Chem. Soc. London **1951**, 1874.

[19] *R. B. Anderson*, J. Amer. Chem. Soc. **68**, 686 (1946).

[20] *M. A. Cook*, J. Amer. Chem. Soc. **70**, 2925 (1948).

[21] *W. G. McMillan*, J. Chem. Physics **15**, 390 (1947); J. Physic. Coll. Chem. **55**, 17 (1951).

[22] *R. N. Smith* und *C. Pierce*, J. Physic. Coll. Chem. **52**, 1115 (1948).

[23] *G. Pickett*, J. Amer. Chem. Soc. **67**, 1959 (1945).

[24] *A. G. Keenan*, J. Amer. Chem. Soc. **70**, 3947 (1948).

[25] *I. F. Duncan*, Disk. Faraday Soc. **3**, 116 (1948).

[26] *W. C. Walker* und *A. C. Zettlemayer*, J. Physic. Coll. Chem. **52**, 47, 58 (1948).

[27] *A. Troesk*, J. chim. physique, **48**, 454 (1951).

[28] *A. B. Robins*, Trans. Faraday Soc. **47**, 773 (1951).

[29] *M. Balazs*, Physica **17**, 865 (1951).

[30] *H. S. Taylor* und *N. Y. Princeton*, J. chim. phys. **47**, 74 (1950).

[31] *R. Fergusson* und *R. M. Barrer*, Trans. Faraday Soc. **46**, 400 (1950).

[32] *Tomohiko Sakaki*, J. Chem. Soc. Japan **73**, 217, 218 (1952).

[33] *G. D. L. Schreiner* und *C. Kemball*, Trans. Faraday Soc. **49**, 190, 292 (1953).

Für die Auswertung der Ergebnisse dieser Arbeit scheint uns eine von *Theimer* abgeleitete Beziehung geeignet, der, ausgehend von statistischen Betrachtungen in Anlehnung an *Hill*, auf halbempirischem Wege die *BET*-Beziehung verbessert und in bezug auf die physikalische Ausdeutung erweitert. Insbesondere wird nicht mehr die Vereinfachung gemacht, daß die Adsorptionswärme der zweiten Schicht gleich der der höheren Schichten und gleich der Verdampfungswärme der reinen flüssigen Phase ist, sondern es wird die Abhängigkeit der Adsorptionswärme von der Zahl der aufgebauten Schichten miteinbezogen.

Theimer

$$\frac{n_a}{n_1} = \frac{c\,x}{1+x}\left(1+\frac{x}{1-x^s}\right) \qquad (3)$$

$$\frac{x}{n_a}\cdot\left(1+\frac{x}{1-x^s}\right) = \frac{1}{c\,n_1} + \frac{1}{n_1}\,x. \qquad (3\,a)$$

Dabei ist s eine empirische Konstante. c hat die Bedeutung

$$c = \exp\left(-\frac{\mu_L - \mu_1}{k\,T}\right).$$

Als Grenzfälle für $s = 1$ bzw. $s = \infty$ ergeben sich die Gl. (1) und (2) von *BET* bzw. von *Hüttig*.

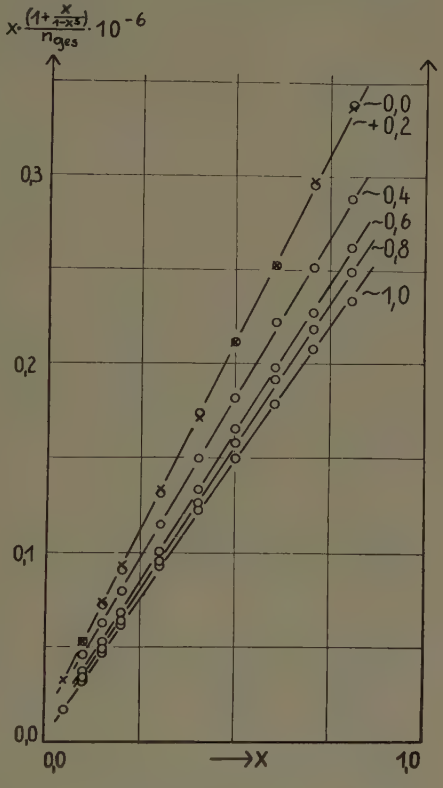


Abb. 12. $x\,\dfrac{1+\dfrac{x}{1-x^s}}{n_{ges}}\cdot 10^{-6}$ gegen x nach Gl. (3a) nach *Theimer* für die Gesamtadsorption Aceton-Chloroform an Mikroglaskügelchen für die Molenbrüche γ = 0,0, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 und 1,0.

In Abb. 12 ist $x\,(1 + x/1 - x^s)/n_{ges}$ gegen x aufgetragen für verschiedene Molenbrüche der Aceton-Chloroform-Mischungen. Die nach (3a) bestimmten Größen c, n_1 und S sind in Tabelle 4 aufgeführt. Abb. 12 zeigt, daß Gl. (3a) bis zu hohen relativen Drucken die Adsorption der reinen Komponenten und die Gesamtmischadsorption tatsächlich recht gut wiedergibt.

Partielle Adsorption der Komponenten Aceton bzw. Chloroform aus der Gasmischung.

Die in Abb. 7 dargestellten Gesamtadsorptionsisothermen liegen für die Molenbrüche 0,8 und 0,6 zwischen den beiden Isothermen der reinen

Komponenten. Die 0,4-Isotherme und noch mehr die 0,2-Isotherme zeigen bei höheren relativen Drucken eine verhältnismäßig geringere Adsorption, was bei der 0,2-Isotherme zur Folge hat, daß diese oberhalb $x = 0{,}2$ unter der Isotherme des reinen Chloroforms verläuft. Das heißt, aus der Mischung Aceton-Chloroform wird beim Molenbruch 0,2 an Aceton + Chloroform weniger adsorbiert als an Chloroform im reinen Zustand.

Aus den Abb. 8 und 9 ist zu sehen, daß die Adsorption des Acetons bedeutend stärker ist als die des Chloroforms. Die Isothermen der Einzelkomponenten verlaufen beim Aceton regelmäßig ohne Überschneidung. Die Adsorption, bezogen auf gleichen relativen Druck, ist um so geringer, je kleiner der Molenbruch ist. Beim Chloroform tritt wiederum beim Molenbruch 0,2 eine Unregelmäßigkeit auf. Die 0,2-Isotherme hat einen relativ zu den übrigen Isothermen zu flachen Verlauf und schneidet daher bei $x = 0{,}9$ die 0,4-Isotherme. Die flache Form der Isotherme der Gesamtadsorption beim Molenbruch 0,2 dürfte auf den flachen Verlauf der 0,2-Isotherme in Abb. 7 zurückzuführen sein, also auf die relativ geringere Adsorption des Chloroforms aus einer Mischung Aceton-Chloroform.

Bemerkenswert ist, daß in der Darstellung der Mischadsorption nach Gl. (3a) (Abb. 12) keine Überschneidungen der Adsorptionsisothermen der Mischadsorption stattfinden.

Im folgenden soll uns die *partielle* Adsorption jeder Komponente und die Frage nach der Zusammensetzung der einzelnen Adsorptionsschichten im Vergleich zur Gasphase im Adsorptionsgleichgewicht interessieren.

In den Abb. 8 und 9 ist n_{Aceton} bzw. $n_{\text{Chloroform}}$ gegen den relativen Druck x aufgetragen. Es ist $x = p/p_s = p_A/p_{s_A}$ bzw. p_B/p_{s_B}. Wir beziehen also in Abb. 8 bzw. 9 die Adsorption n_A bzw. n_B der Einzelkomponenten auf den relativen Druck der Komponenten A bzw. B.

Für eine Theorie der *partiellen* Adsorption aus einer Mischgasphase scheint uns die von *Hill* abgeleitete Beziehung geeignet, die wir in einer für eine Darstellung der Meßergebnisse uns geeignet erscheinenden Weise umwandeln und vereinfachen wollen.

Für ein binäres System (A, B) gilt für die Adsorption der Komponente A in guter Näherung[34]:

[34] Eigentlich muß statt γ_i γ_{v_i} stehen, wobei

$$\gamma_{v_i} = \frac{\gamma_i}{\gamma_i + (1-\gamma_i)\,(MV_B/MV_A)^{2/3}}$$

ist. MV sind die Molvolumina der reinen Komponenten A und B. MV_{Aceton} und $MV_{\text{Chloroform}}$ differieren um etwa 8%, dann differieren γ_{v_i} und γ_i nur um 1%.

$$\frac{n_A}{n_1} = \frac{E_0}{1 + E_0 (1 + E_1 + E_1 E_2 + E_1 E_2 E_3 + \ldots)} \cdot$$
$$\cdot [(1 + E_1 + E_1 E_2 + E_1 E_2 E_3 + \ldots) \gamma_1$$
$$+ (E_1 + E_1 E_2 + \ldots) \gamma_2$$
$$+)E_1 E_2 + E_1 E_2 E_3 + \ldots) \gamma_3$$
$$+ (\ldots)$$
$$+ (E_1 E_2 E_3 \ldots) E_n \cdot \gamma_n]. \qquad (4)$$

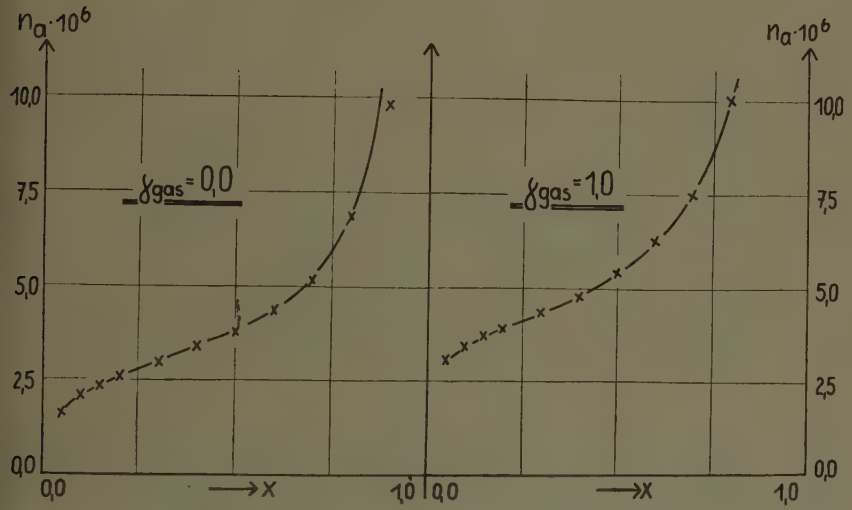


Abb. 13. Adsorption n_A und n_B der reinen Komponenten Aceton und Chloroform als Funktion von x nach Gl. (10).

Dabei gelten die Definitionen von S. 742 ff. und außerdem ist:

$$E_0 = x_A Q_A + x_B Q_B \quad \text{und} \quad E_i = x_A f_A + x_B f_{B_i} \qquad (5)$$
$$Q_A = \exp (q_{A_1} - q_{A_L})/RT.$$

q_{A_1} = Adsorptionswärme bei der Adsorption der reinen Komponenten A in der *ersten* Schicht, q_{A_L} = Verdampfungswärme der reinen Komponente A. Es gilt:

$$x_A = \frac{p_A}{p_{0A}} \quad \text{und} \quad p_{0A} = \frac{p_{sA} f_{A_{fl}}}{\gamma_{fl}},$$

daher ist:

$$x_A = \frac{p_A \gamma_{fl}}{p_{sA} f_{A_{fl}}}$$

oder, da $p_{sA} = p_s \cdot \gamma$ und $p_A = \gamma \cdot p$,

$$x_A = \frac{p_A \cdot \gamma_{\text{fl}}}{p_s \cdot \gamma \cdot f_{A_{\text{fl}}}} = \frac{p}{p_s} \frac{\gamma_{\text{fl}}}{f_{A_{\text{fl}}}} \tag{6}$$

und entsprechend:

$$x_B = \frac{p}{p_s} \frac{(1-\gamma_{\text{fl}})}{f_{B_{\text{fl}}}}. \tag{6a}$$

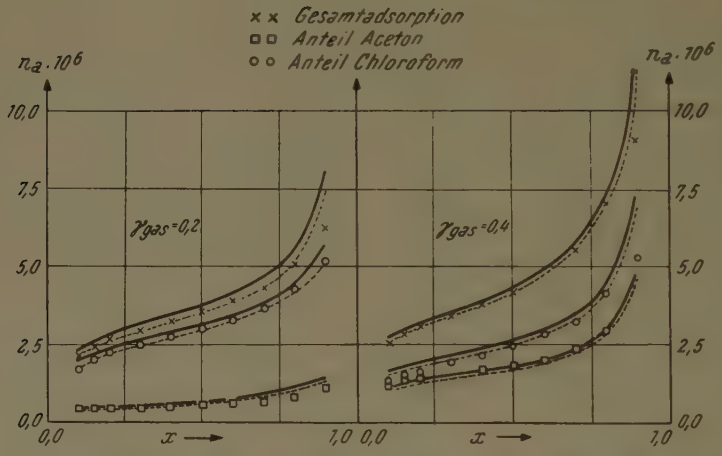


Abb. 14. Partielle Adsorption und Gesamtmischadsorption n_a als Funktion von x beim Molenbruch 0,2 und 0,4 nach Gl. (10). × × = experimentelle Gesamtadsorption; □ □ □ = experimentelle partielle Adsorption Aceton; ○ ○ ○ = experimentelle partielle Adsorption Chloroform. Ausgezogene Kurve berechnet nach (10) mit unkorrigiertem n_1 (Tabelle 5) und gestrichelter Kurve berechnet nach (10) mit Korr. n_1'-Werten (Tabelle 5).

(6) und (6a) in (5) gibt:

$$E_i = \frac{p}{p_s} \left[\gamma_{\text{fl}} \frac{f_{A_i}}{f_{A_{\text{fl}}}} + (1-\gamma_{\text{fl}}) \frac{f_{B_i}}{f_{B_{\text{fl}}}} \right]. \tag{7}$$

Setzen wir als Vereinfachung:

$$\frac{f_{A_i}}{f_{A_{\text{fl}}}} = \frac{f_{B_i}}{f_{B_{\text{fl}}}},$$

so wird mit dieser Vereinfachung

$$E_1 = E_2 = \ldots = E_i = \frac{p}{p_s}.$$

Dann wird aus (4)

$$\frac{n_A}{n_1} = \frac{c\,x\,(1-x)}{(1-x)\,(1-x+c\,x)} (\gamma_1 + x \cdot \gamma_2 + x^2\gamma_3 + \ldots x^{n-1} \cdot \gamma_n). \tag{8}$$

Die Zusammensetzung der obersten Schichten wird der der flüssigen Phase gleich sein, die der Zusammensetzung der Gasphase entspricht. Nur in den ersten Schichten werden größere Abweichungen zu erwarten sein. Man kann versuchen, für die Änderung von γ_i mit i passende Ansätze zu machen, die aber so beschaffen sein müssen, daß die Gl. (8) sich vereinfacht und dabei noch auswertbar bleibt.

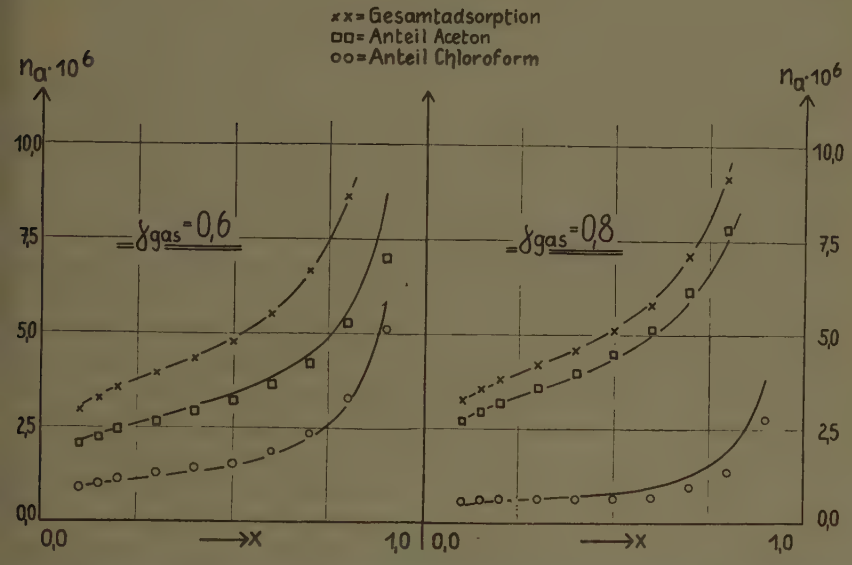


Abb. 15. Partielle Adsorption und Gesamtmischadsorption n_a als Funktion von x. Beim Molenbruch 0,6 und 0,8. × × ×, □ □ □ und ○ ○ ○ bedeuten dasselbe wie in Abb. 14. Ausgezogene Kurve berechnet nach (10) mit unkorrigiertem n_1 (Tabelle 5) und gestrichelte Kurve berechnet nach (10) mit etwas korrigierten n_1'-Werten (Tabelle 5).

Zunächst setzen wir:

$$c = \gamma_i c_A + (1 - \gamma_i) c_B = \gamma_i (c_A - c_B) + c_B$$

und

$$n_1 = \gamma_i n_{1A} + (1 - \gamma_i) n_{1B} = \gamma_i (n_{1A} - n_{1B}) + n_{1B}.$$

c_A, c_B, n_{1A} und n_{1B} sind die Größen, die sich aus der Auswertung der Adsorptionsisothermen der *reinen* Komponenten ergeben (vgl. Tabelle 4, S. 748).

Für γ_i als Funktion von i könnte man etwa $\gamma_i = (1 \pm a/i)$ setzen oder einen ähnlichen anderen Ansatz machen. Alle solche Ansätze, soweit diese mit (8) überhaupt zu auswertbaren Ausdrücken führen, ergeben aber nur eine schlechte Annäherung an die experimentell als Funktion von x gemessenen n_A bzw. n_B. Der beste Angleich an die experimentellen Werte ergab sich unter Zugrundelegung der Vereinfachung,

daß man für die Zusammensetzung etwa der ersten fünf Schichten einen mittleren Wert $\bar{\gamma}_i$ ansetzt und die Zusammensetzung der darüber liegenden Schichten gleich dem Molenbruch γ_{fl} der flüssigen Phase setzt. Der Hauptanteil des Unterschiedes zwischen $\bar{\gamma}_i$ und γ_{fl} dürfte dabei auf die *erste* Schicht kommen. Unter den genannten Voraussetzungen vereinfacht sich (8) zu

$$\frac{n_A}{n_1} = \frac{c\,x}{(1-x)(1-x+c\,x)}\,[\bar{\gamma}_i + x^i(\gamma_{fl} - \bar{\gamma}_i)]. \quad (9)$$

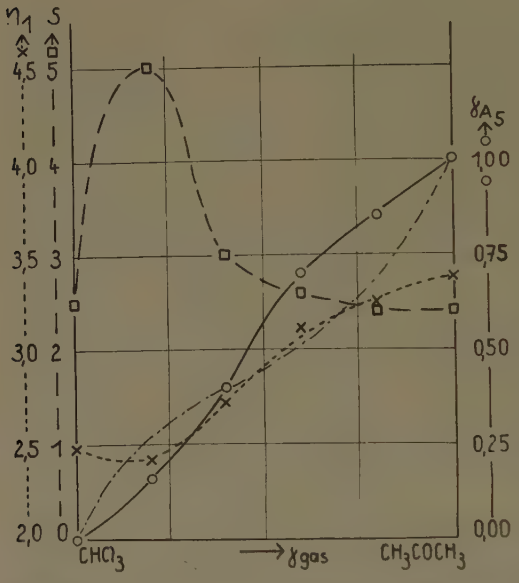


Abb. 16. n_1: ....., s: – – –, γ_j: und γ_{fl} – . – . – als Funktion von γ für die Mischadsorption Aceton-Chloroform bei 20°.

Der Ausdruck vor der eckigen Klammer ist die *BET*-Beziehung. Ein entsprechender Ausdruck gilt für *B*. Durch Addition von n_A und n_B bekommt man die Gesamtadsorption. Die eckige Klammer wird dabei gleich eins, und man sieht, daß die Gesamtadsorption in (9) durch die *BET*-Beziehung wiedergegeben wird. Wir sahen aber auf S. 749, daß die Gesamtadsorption in einem genügend großen Bereich des relativen Druckes x besser durch die Gl. (3) nach *Theimer* wiedergegeben wird. Wir setzen daher in (9) vor die eckige Klammer den Ausdruck (3) und bekommen:

$$\frac{n_A}{n_1} = \frac{c\,x}{(1+c\,x)}\left(1 + \frac{x}{1-x^s}\right)[\bar{\gamma}_i + x^i(\gamma_{fl} - \bar{\gamma}_i)]. \quad (10)$$

Tabelle 5 bringt die Konstanten für die 20°- und 10°-Adsorptionsisothermen. Die damit nach Gl. (10) berechneten adsorbierten Mengen sind in Abb. 13, 14 und 15 für die Molenbrüche 0,0, 1,0, 0,2, 0,4, 0,6 und 0,8 als ausgezogene Kurven dargestellt.

Für die Molenbrüche 0,0, 0,6, 0,8 und 1,0 gibt Gl. (10) bis zu relativen Drucken $x > 0{,}8$ recht gut die experimentellen Werte wieder. Der experimentelle Wert $x = 0{,}9$ liegt meist etwas zu tief, weil nach unseren Erfahrungen in diesem relativen Druckbereich sich das Adsorptionsgleichgewicht schwer in definiert reproduzierbarer Weise einstellt; auch

Tabelle 5. Auswertung nach Gl. (10). (Benutzte Konstanten.)

	γ	s	n_1	n_1'	c	$\bar{\gamma}_i$	γ_{fl}	$\bar{\gamma}_{fl}-\bar{\gamma}_i$
20° C	0,0	2,5	2,48		34,0	0,00	0,00	0,00
	0,2	5,0	2,62	2,42	46,2	0,16	0,285	+ 0,125
	0,4	3,0	2,84	2,72	64,4	0,40	0,40	0,00
	0,6	2,6	3,11		87,2	0,70	0,525	— 0,175
	0,8	2,4	3,245		98,6	0,85	0,70	— 0,150
	1,0	2,4	3,38		110,0	1,00	1,00	0,00
10° C	0,0	2,7	2,53		34,3	0,00	0,00	0,00
	0,2	7,0	2,69	2,45	41,1	0,16	0,28	+ 0,14
	0,4	4,0	2,94		46,0	0,415	0,40	— 0,015
	0,6	2,6	3,20		57,2	0,68	0,515	— 0,165
	0,8	2,6	3,36		70,6	0,85	0,69	— 0,16
	1,0	2,5	3,51		87,0	1,00	1,00	0,00

ist der Beginn von Kapillarkondensation zwischen den Glaskügelchen nicht ganz ausgeschlossen (vgl. Anm. 4), S. 733. Die Abweichungen bei den Molenbrüchen 0,2 und 0,4 können kompensiert werden, wenn man die n_1-Werte verringert. Die diesbezüglichen n_1'-Werte sind in Tabelle 5 mit angegeben. Die für $\gamma = 0{,}2$ und 0,4 mit den korrigierten n_1'-Werten nach Gl. (10) berechneten Adsorptionsisothermen sind in Abb. 14 gestrichelt eingezeichnet. Die Übereinstimmung mit den experimentellen Werten ist bemerkenswert gut.

Es sind in Abb. 16 die Größen s gestrichelt, n_1 bzw. n_1' gepunktet, $\bar{\gamma}_i$ ausgezogen und γ_{fl} als Punkt-Strich-Kurve[35] als Funktion von γ aufgetragen. Der Vergleich von $\bar{\gamma}_i$ und γ zeigt, daß für Molenbrüche $\gamma < \gamma_{azeotr}$ γ_i kleiner ist als γ und für $\gamma > \gamma_{azeotr}$ ist γ_i größer als γ. γ_{fl} verhält sich dagegen umgekehrt. Dies kommt im Diagramm Abb. 17 noch besser zum Ausdruck, in welchem $\bar{\gamma}_i$ und γ_{fl} als Funktion des zu γ bzw. γ_{fl} gehörenden Kondensationsdruckes $p_{s\gamma}$ dargestellt sind. Nur für $\gamma = \gamma_{azeotr}$ ist $\gamma_i = \gamma_{fl} = \gamma$.

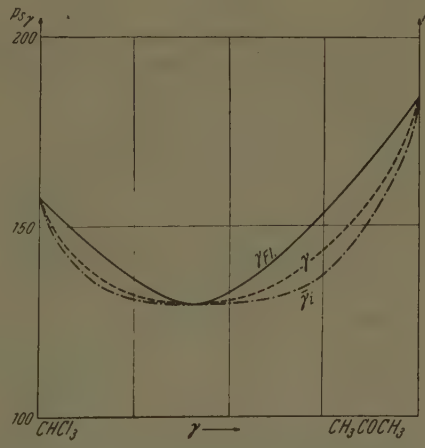


Abb. 17. γ_i und γ_{fl} als Funktion des zu γ bzw. γ_{fl} gehörenden Sättigungsdruckes $p_{s\gamma}$ des p_s γ-Diagramms Abb. 2.

[35] Bezogen auf den zu γ gehörenden Sättigungsdruck $p_{s\gamma}$ (Abb. 2).

s hat ein Maximum bei etwa 0,25, dort wo n_1 ein Minimum besitzt. Das Minimum von n_1 bedeutet, daß bei kleinen γ insgesamt weniger Moleküle Aceton + Chloroform adsorbiert werden als bei der Adsorption von reinem Chloroform. Ein gewisser spiegelbildlicher Zusammenhang zwischen s und n_1 ist unverkennbar und kann gegebenenfalls als Grundlage eines weiteren Ausbaues der Theorie der Mischadsorption dienen, wobei aber erst noch wesentlich mehr Beispiele einer systematisch durchuntersuchten Adsorption vorliegen müßten.

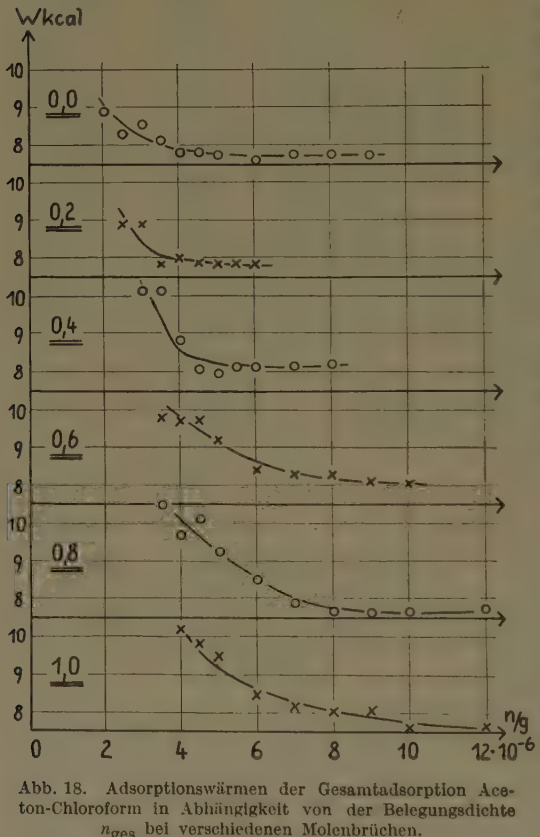


Abb. 18. Adsorptionswärmen der Gesamtadsorption Aceton-Chloroform in Abhängigkeit von der Belegungsdichte n_{ges} bei verschiedenen Molenbrüchen.

Adsorptionswärmen.

Die Adsorptionswärmen wurden aus den Adsorptionsisothermen bei 20° und 10° nach der Gl. (11) berechnet:

$$W = \frac{\ln p_1 - \ln p_2}{T_2 - T_1} R \cdot T_1 \cdot T_2. \qquad (11)$$

p_1 und p_2 sind die Gleichgewichtsdrucke über der adsorbierten Phase bei T_1 und T_2, bezogen auf gleiche Belegungsdichten. Abb. 18 gibt W als Funktion der Belegungsdichte n_{ges} für verschiedene Molenbrüche γ der Gasphase im Adsorptionsgleichgewicht.

Wegen der kleinen Temperaturdifferenz sind die Messungen relativ ungenau. Der Abfall der Adsorptionswärmen mit steigender Belegungsdichte ist aber evident.

Für eine Vertiefung der Theorie der Mischadsorption erscheint es notwendig, Präzisions-Adsorptionsmessungen bei relativen Drucken $< 0{,}1$ auszuführen, also in einem Druckbereich, in welchem die ersten Adsorptionsschichten aufgebaut werden, wobei selbstverständlich nicht

nur die Gesamtadsorption, sondern auch die partielle Adsorption, das heißt also die Zusammensetzung der ersten Adsorptionsschichten, gemessen werden muß. Solche Messungen würden aber eine ganz besondere experimentelle Technik erfordern, die von der hier beschriebenen wesentlich verschieden sein müßte, da eine große Genauigkeit im Gebiete kleiner Adsorption und in bezug auf kleine Änderungen in der relativen Zusammensetzung erreicht werden muß. Man wird auf Grund solcher Messungen vielleicht dann besser etwas über die Art der Abhängigkeit von γ_i als Funktion von i aussagen können und über den Einfluß einer Wechselwirkung der adsorbierten Moleküle untereinander, dadurch würde es unter Umständen möglich sein, etwas über f_{A_i} und f_{B_i} (S. 751) auszusagen und könnte dann auch möglicherweise die Bedeutung und Inhaltlichkeit der Konstanten s erfassen. Alles in allem erscheint es sehr erwünscht, weitere experimentelle Untersuchungen über Mischadsorption an definierten Oberflächen unter Ausschluß von Kapillarkondensationseffekten auf breiter Basis auszuführen.

Zusammenfassung.

Es wurden Mischadsorptionsmessungen des Systems Aceton—Chloroform mit einem Dampfdruckminimum an Mikroglaskügelchen bei zwei verschiedenen Temperaturen ausgeführt, also an homogenen Oberflächen unter Ausschaltung des Einflusses verschiedener Kristallgitterflächen und eventueller Kapillarkondensationseffekte.

Die Mikroglaskugeln (2 bis 12 μ), deren Gesamtoberfläche pro g genau bestimmt wurde, wurden nach einer gegenüber früheren Verfahren verbesserten Methode hergestellt.

Es wurde die Gesamtadsorption bei verschiedenen Molenbrüchen der Gaszusammensetzung im relativen Druckbereich zwischen 0,1 bis 0,9 gemessen. Dabei wird als Sättigungsdruck jeweils der von uns besonders bestimmte Dampfdruck der zum Molenbruch γ der Gasphase gehörenden flüssigen Mischphase zugrunde gelegt.

Außerdem wurde die Zusammensetzung der *adsorbierten* Mischphase bestimmt, die im Adsorptionsgleichgewicht mit der Gasmischphase einer bestimmten Zusammensetzung γ ist. Daraus ergibt sich die partielle Adsorption von Aceton und von Chloroform als Funktion des relativen Druckes bei verschiedener Zusammensetzung der Gasphase.

Die Adsorptionsisothermen der reinen Komponenten lassen sich durch eine jüngst von *Theimer* entwickelte Formel gut wiedergeben. Für die *partielle* Adsorption wurde auf der Grundlage eines von *Hill* entwickelten Ansatzes in Verbindung mit der Gleichung von *Theimer* eine Formel aufgestellt, die die experimentellen Ergebnisse gut wiedergibt.

Die Zusammensetzung der ersten, bei verschiedenen relativen Drucken bei einer bestimmten Zusammensetzung γ der Gasphase adsorbierten Schichten ist verschieden von der Zusammensetzung γ_{fl} der *flüssigen* Mischphase, die gemäß dem p, γ-Diagramm mit der Gasphase γ koexistiert.

Es werden aus den auf konstante Belegungsdichte bezogenen Adsorptionsdrucken bei zwei Temperaturen die Adsorptionswärmen in Abhängigkeit von der für die verschiedenen Zusammensetzungen der Gasphase gemessenen Belegungsdichte n_a berechnet. Die Adsorptionswärmen nehmen mit wachsender Adsorption n_a ab.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Industrieverband „Fonds der Chemie“ danken wir verbindlichst für finanzielle Unterstützungen, die uns die Durchführung dieser Untersuchungen ermöglichten.

Über das Reaktionsprodukt von p,p′-Difluor-m,m′-dinitrodiphenylsulfon mit Seidenfibroin:

Verhalten gegen Salzsäure, Ameisensäure, Cupriäthylendiamin und Lithiumbromid*[1].

Von

Helmut Zahn und **Herbert Zuber.**

Aus dem Chemischen Institut der Universität Heidelberg.

Mit 9 Abbildungen.

(Eingelangt am 23. April 1954.)

1. Während unbehandeltes Fibroin in konz. Salzsäure, in Cupriäthylendiamin und in Lithiumbromid molekular gelöst wird, erfahren mit p,p′-Difluor-m,m′-dinitrodiphenylsulfon behandelte Fibroinpräparate nur eine beträchtliche Verkürzung, keine Lösung in denselben Reagenzien.

2. Die Doppelbrechung und die Orientierung des Röntgenogramms verschwinden nach der Kontraktion. Durch Dehnen der ausgewaschenen Präparate kann man das ursprüngliche Faserröntgenogramm des Fibroins regenerieren.

3. Die Ergebnisse beweisen das Vorliegen von Hauptvalenzbrücken zwischen verschiedenen Ketten in den tyrosinreichen Segmenten des Fibroins.

4. Vernetztes Fibroin ist ein Modell für Superkontraktionsversuche (Superkontraktion vom Typus der Wasserstoffbrückenspaltung) und verhält sich in vielen Punkten wie unbehandeltes Keratin mit seinen nativen Disulfidbrücken in den cystinreichen Segmenten.

5. Das mit Cupriäthylendiamin kontrahierte Sulfonfibroin zeigt im Röntgenogramm bei 6,5 Å einen Ring, der dem eingebauten Cupriäthylen-diamin-Fibroinkomplex zugeschrieben werden kann.

---

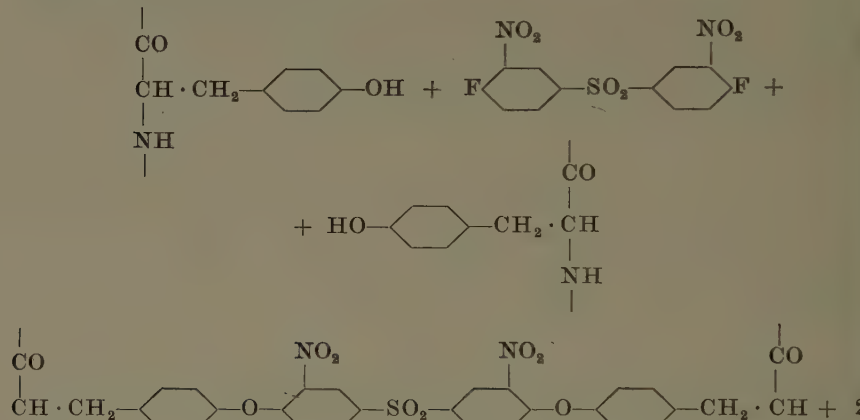
* Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zum 60. Geburtstag in Verehrung gewidmet.

[1] 8. Mitteilung über Reaktionen aromatischer aktiver Fluorverbindungen it Aminosäuren und Proteinen. 7. Mitteilung vgl. *H. Zahn* und *D. Wegerle*, as Leder **1954** (im Druck).

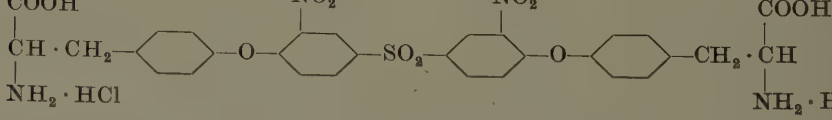
6. Die Quellung und Kontraktion von Fibroin in Ameisensäure wird durch den Einbau von Sulfonbrücken wesentlich verringert.

1. Einleitung.

Vor kurzem hatten wir gefunden, daß p,p'-Difluor-m,m'-dinitrodiphenylsulfon[1a], kurz „FF-Sulfon" genannt, seine beiden reaktionsfähigen Fluoratome gegen die Phenolgruppen von Tyrosinresten im Seidenfibroin austauscht. Dadurch entstehen kovalente Diphenylsulfonbrücken im Fibroin, entsprechend folgendem Schema:



Folgende Befunde sprechen für diese eigenartige Vernetzungsreaktion: Aus der Abnahme des Tyrosingehaltes von 12,5% auf 3,2% kann berechnet werden, daß eine bifunktionelle Reaktion des FF-Sulfons zu einer Gewichtszunahme von 7,8% führen muß. Eine nur einseitige Reaktion des FF-Sulfons mit Tyrosin ließe eine Gewichtszunahme von 15,6% erwarten. Gefunden wurden 8,4%. Auch der S-Gehalt des vernetzten Fibroins stimmt mit der Rechnung überein. Hydrolysiert man die vernetzte Faser mit 6 n Salzsäure, so erhält man im Hydrolysat als unlösliches Rohprodukt das Sulfon-bis-tyrosin-dihydrochlorid in einer Ausbeute von 80 bis 90% d. Th.:



[1a] *H. Zahn* und *H. Zuber*, Ber. dtsch. chem. Ges. **86**, 172 (1953).

Die experimentellen Einzelheiten werden an anderem Orte veröffentlicht.

An Kalottenmodellen (Abb. 1) ließ sich zeigen, daß die Diphenylsulfonbrücke zwischen zwei benachbarten Polypeptidkettenrosten nicht in einem Winkel von 90° untergebracht werden kann, sondern sich etwa parallel von oben nach unten erstreckt und ein Tyrosinphenol der Kette 1 mit dem 5 bis 6 Aminosäurereste weiter entfernten Tyrosinphenol der Kette 2 reagieren kann. Dies führte schließlich — wie an anderem Orte gezeigt werden wird — zu der Feststellung, daß im Seidenfibroin die Tyrosinreste und auch Glutaminsäure, Asparaginsäure, Arginin, Lysin, Threonin, Phenylalanin, Leucin, Valin, Prolin[2] gehäuft im sogenannten „amorphen" Segment vorkommen. Die Frage aber, ob Tyrosinreste ein und derselben Kette oder benachbarter Ketten vernetzt wurden, ließ sich zunächst durch chemische Untersuchungen nicht klären.

Abb. 1. Das Kalottenmodell zeigt die eingebaute Diphenylsulfonbrücke zwischen zwei benachbarten Polypeptidketten (Backbone-Ebene senkrecht zur Bildebene).

Dagegen sprechen die im folgenden beschriebenen Eigenschaften des mit FF-Sulfon umgesetzten Fibroins für eine echte intermolekulare („interchenare"; chena = Kette) Vernetzungsreaktion, also zwischen Tyrosinresten *verschiedener* Ketten.

2. Verhalten von Sulfon-Fibroin gegen konz. HCl.

Während unbehandeltes Fibroin in konzentrierter Salzsäure schon bei Zimmertemperatur rasch in Lösung geht, wirkt diese Säure auf die vernetzte Faser wesentlich weniger intensiv. Konz. Salzsäure löst die Faser erst nach etwa 5 Stdn. auf. Der Lösungsvorgang nach dieser Zeit beruht auf einem hydrolytischen Abbau der Peptidbindungen. Bei der Behandlung mit konz. Salzsäure schrumpft die zunächst ungelöste Faser auf etwa ein Drittel ihrer ursprünglichen Länge zusammen. So wurde in konz. Salzsäure innerhalb 45 Sek. eine Kontraktion des Faserbündels von 53% beobachtet. Die Abb. 2 zeigt den Kontraktionsvorgang unter dem Mikroskop. Die kontrahierte Faser läßt sich mit Wasser auswaschen,

---

[2] Diese wurden in Brückenpeptiden angetroffen. *H. Zuber*, Dissertation Heidelberg (1953). — *H. Zahn* und *H. Zuber*, Textil-Rundschau (St. Gallen) **9**, 19 (1954).

wobei eine durch Abnahme der Längsquellung bedingte weitere Kontraktion von etwa 10% stattfindet (Gesamtkontraktion: 63%).

Die feuchten Fäden sind kautschukelastisch, haben einen negativen Ausdehnungskoeffizienten und verfestigen sich sowohl durch Dehnen (Kristallisation) als auch durch Trocknen wieder. Die vor der Salzsäurebehandlung stark doppelbrechende Sulfonfaser (siehe Abb. 2b) verliert

Abb. 2. a), b) Unkontrahiertes Faserbündel des vernetzten Fibroins im Hellfeld sowie polarisierten Licht. c) bis f) Kontraktion desselben Faserbündels des vernetzten Fibroins mit konz. HCl unter dem Mikroskop (Temperatur 20° C).

nach der Kontraktion in konz. Salzsäure ihre Doppelbrechung. Diese tritt nach dem Dehnen wieder auf. Die röntgenographische Untersuchung ergab folgendes: Vernetztes Fibroin liefert ein ganz ähnliches Faserröntgenogramm wie unbehandelte Seide (Abb. 3a und b). Der Einbau der geräumigen Diphenylsulfonbrücken hat offensichtlich das Kleinperiodengitter nicht verändert. Man wird ähnlich wie *K. H. Meyer* und *H. Mark*[3] annehmen dürfen, daß die Reaktion nicht im kristallinen Bereich erfolgt ist, da im Gitter des Fibroins kein Platz für Tyrosin ist und der Einbau des neuen Moleküls das Gitter hätte aufweiten müssen. Das Kalottenmodell (Abb. 1) zeigt auch, daß die Brücke nur untergebracht werden kann, wenn der Abstand zwischen benachbarten Kettenrosten

[3] *K. H. Meyer* und *H. Mark*, Ber. dtsch. chem. Ges. **61**, 1932 (1928).

in der Seitenkettenrichtung 10 Å wie im β-Keratin beträgt. In den kristallinen Bereichen der Seide beträgt der Molekülabstand in Seitenkettenrichtung nur 5,3 Å *(R. Brill*[4]*)*.

Die Röntgenaufnahme des in Salzsäure kontrahierten, mit Wasser gewaschenen und an der Luft getrockneten Sulfon-Fibroins zeigt an Stelle des gewohnten Faserdiagramms nur zwei diffuse Interferenzringe (Tabelle 2: I und Abb. 4a). Die Lage der beiden Netzebenenabstände (9,20 und 4,26 Å) ist mit den scharfen und starken Reflexen des Faserdiagramms des unbehandelten Fibroins identisch. Der Verlust der Kristallorientierung entspricht dem Verschwinden der Doppelbrechung.

Eigenartig ist das Röntgenogramm des in Salzsäure kontrahierten und mit Wasser ausgewaschenen, aber nicht getrockneten Sulfon-Fibroins (V, Tabelle 2, Abb. 4a): Hier findet man zwei diffuse Interferenzringe, denen sich Netzebenenabstände von 3,5 und ~ 7 Å zuordnen lassen, die wir dem Wasser zuschreiben möchten[5]. Das getrocknete Präparat liefert wieder

Abb. 3. Röntgenogramm von a) unbehandeltem Fibroin, b) vernetztem Sulfon-Fibroin.

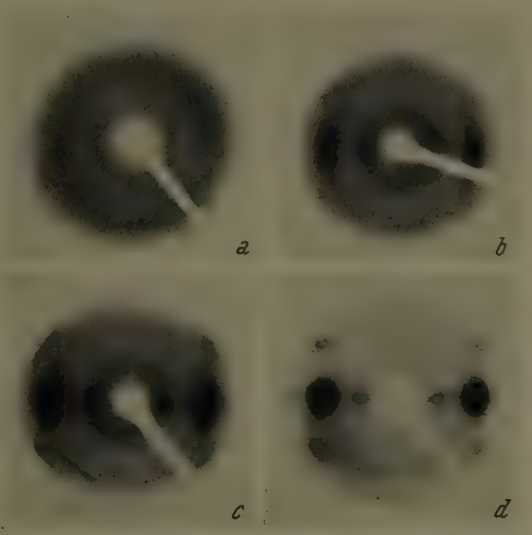


Abb. 4. Röntgenogramme: a) Vernetztes Fibroin in konz. HCl kontrahiert (63%). b) Vernetztes Fibroin in konz. HCl kontrahiert von 3,7 bis 5,0 cm gedehnt. c) Vernetztes Fibroin in konz. HCl kontrahiert von 3,7 bis 7,0 cm gedehnt. d) Vernetztes Fibroin in konz. HCl kontrahiert von 3,7 bis 10,0 cm gedehnt.

[4] *R. Brill*, Z. physik. Chem., Abt. B **53**, 61 (1943).

[5] Verglichen wurde mit einer Röntgenaufnahme von reinem Wasser (Tabelle 2, Abb. 8a).

Tabelle 1. Kontraktion von Fibroinpräparaten.

Fibroinpräparat	Reagenz	Temperatur °C	Kontraktion %	Kautschukelastisch
Vernetztes Fibroin	1. 36% HCl	20	53 \ 63	+
	2. H_2O	20	10 /	+
Vernetztes Fibroin	Cupriäthylendiamin	20	60	+
Vernetztes Fibroin	Lithiumbromid	70	63	+
Unbehandeltes Fibroin	Ameisensäure	20	20—22	+
Monofunktionell umgesetztes Fibroin	Ameisensäure	20	20—22	+
Vernetztes Fibroin	Ameisensäure	20	2—4	?

Tabelle 2. Einige Röntgeninterferenzen von Sulfon-Fibroinpräparaten (HCl-Versuche).

Nr.	Präparat[6]	d (Å)	Lage	Intensität	Ausbildung
I	Sulfon-Fibroin in HCl	9,20	Ring	st	scharf
	kontrahiert, mit Wasser	3,6—4,8	Ring	st	diffus
	gewaschen	Max. 4,26			
II	Sulfon-Fibroin in HCl	9,2	Ring	st	diffus
	kontrahiert, von 3,7 bis	4,33	Äquator	st	Sichellänge 60°
	5,0 cm gedehnt, mit Wasser gewaschen	4,33	Ring	s	scharf
III	Sulfon-Fibroin in HCl	9,2	Äquator	m	diffus
	kontrahiert, von 3,7 bis	9,2	Ring	m	
	7,0 cm gedehnt, mit Wasser gewaschen	4,7	Äquator	s	
		4,30	Äquator	st	Sichellänge 45°
		3,55	Meridian	ss	
IV	Sulfon-Fibroin in HCl	9,20	Äquator	st	scharf
	kontrahiert, von 3,7 bis	4,76	Äquator	m	
	10,0 cm gedehnt, mit	4,33	Äquator	st	scharf,
	Wasser gewaschen				Sichellänge 30°
		3,55	Meridian	s	scharf
V	Sulfon-Fibroin in HCl	6,9—7,0	Ring	m	diffus
	kontrahiert, mit Wasser	2,9—3,9	Ring	st	diffus
	gewaschen. Aufnahme der feuchten Faser	Max. 3,5			
VI	Wie Nr. V, Präparat wieder getrocknet	9,2	Ring	st	diffus
		4,3	Ring	st	diffus
	Wasser	6,9—7,0	Ring	st	diffus
		3,5	Ring	st	diffus

ein desorientiertes Seidenröntgenogramm (VI, Tabelle 2, Abb. 5b) Möglicherweise besteht ein Zusammenhang mit dem Röntgenogramm

[6] Wenn nicht anders angegeben, getrocknet.

sowohl des mit Wasser oder Ameisensäure gequollenen als auch des getrockneten Gels der sogenannten Seide I, die aus löslichem Fibroin *(Coleman* und *Howitt*[7]*)* durch Ausfällen gebildet wird. *Kratky* und *Schauenstein*[8] fanden im Röntgenogramm des feuchten Gels Reflexe bei 3,5 und 7 Å und beim getrockneten Gel das desorientierte Seidenröntgenogramm. Voll auf die ursprüngliche Länge gedehnte Sulfonfäden liefern wieder ein Röntgenogramm, das in Lage und Intensität der Reflexe nicht vom Röntgenogramm unbehandelter Seide zu unterscheiden ist (IV, Tabelle 2, Abb. 4d).

Die teilweise gedehnte Faser zeigt entsprechend dem zunehmenden Dehnungsgrad eine zunehmende Orientierung (II und III, Tabelle 2, Abb. 4b, von 3,7 bis 5 cm; Abb. 4c, von 3,7 bis 7 cm gedehnt).

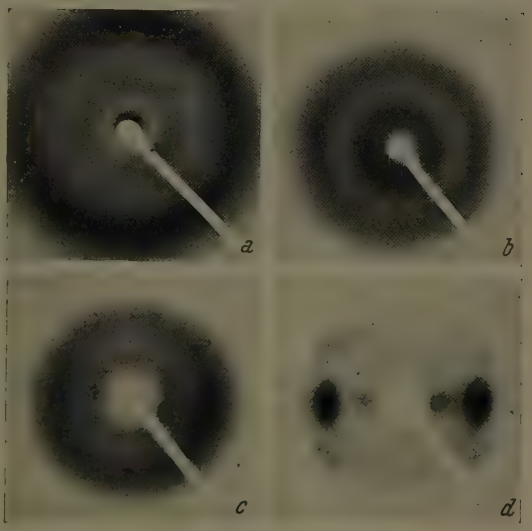


Abb. 5. Röntgenogramme: a) Vernetztes Fibroin in konz. HCl kontrahiert (63%), Aufnahme der mit Wasser befeuchteten Faser. b) Präparat wie unter a), wieder getrocknet. c) Vernetztes Fibroin mit Lithiumbromid 63% kontrahiert. d) Vernetztes Fibroin mit Lithiumbromid 63% kontrahiert und wieder gedehnt.

3. Verhalten gegen Ameisensäure.

Wie bereits von *K. H. Meyer* festgestellt worden ist, vermag Ameisensäure das Seidenfibroin stark zu quellen. Dabei kontrahiert die Faser um 20 bis 22% und wird kautschukelastisch. Das normale Röntgenogramm verschwindet. Dafür treten zwei verwaschene Interferenzringe auf, welche offensichtlich der Ameisensäure zuzuschreiben sind, da diese das gleiche Röntgenogramm liefert. Beim Auswaschen mit Wasser wird die Faser fest und im Röntgenogramm erscheinen wieder die normalen Seidenreflexe. Dagegen kontrahiert das vernetzte Sulfon-Fibroin nur etwa um 2 bis 4%. Vergleichsweise wurde auch eine Faser in Ameisensäure gequollen, die mit dem analogen, monofunktionellen p-Fluor-m,m′-dinitrodiphenylsulfon umgesetzt war. Hier war eine Vernetzung

[7] *D. Coleman* und *F. O. Howitt*, Proc. Roy. Soc. London, Ser. A **190**, 145 (1947).

[8] *O. Kratky* und *E. Schauenstein*, Faraday Soc. Discuss. **11**, 171 (1951).

der Faser nicht möglich und die Kontraktion betrug hier wieder 20 bis 22%. Die Kautschukelastizität war die gleiche wie bei der unbehandelten Faser in Ameisensäure.

Tabelle 3. Einige Röntgeninterferenzen von Sulfon-Fibroin-Präparaten (Ameisensäureversuche).

Nr.	Präparat[9]	*d* Å	Lage	Intensität	Ausbildung
VII	Unbehandeltes Fibroin	7,6	Ring	st	diffus
	mit Ameisensäure gequollen, 22 bis 24% kontrahiert. Aufnahme: mit Ameisensäure befeuchtet	3,8	Ring	m	diffus
VIII	Unbehandeltes Fibroin	9,3	Äquator	m	diffus
	mit Ameisensäure gequollen, 22 bis 24% kontrahiert, mit Wasser gewaschen. Aufnahme: mit Wasser befeuchtet	4,8	Äquator	m	
		4,33	Äquator	st	scharf
		3,5	Meridian	s	diffus
		+ Wasserringe			
IX	Sulfon-Fibroin mit Ameisensäure gequollen, 2 bis 4% kontrahiert. Aufnahme: mit Ameisensäure befeuchtet	7,6	Ring	m	diffus
		4,33	Äquator	st	Sichellänge 60°
					scharf
		3,8	Ring	st	diffus
X	Sulfon-Fibroin mit Ameisensäure gequollen, 2 bis 4% kontrahiert, mit Wasser gewaschen. Aufnahme: mit Wasser befeuchtet	9,5	Äquator	s	diffus
		4,80	Äquator	m	
		4,33	Äquator	st	scharf
		+ Wasserringe			
	Ameisensäure (90%)	7,6	Ring	st	diffus
		3,8	Ring	st	diffus
	Wasser	6,9—7,0	Ring	st	diffus
		3,5	Ring	st	diffus

Das normale Seidenröntgenogramm ist beim mit Ameisensäure gequollenen unbehandelten Fibroin (ebenso beim monofunktionell umgesetzten) verschwunden, während beim vernetzten Fibroin die starken Äquatorreflexe des Seidenröntgenogramms in Form einer Sichel neben den diffusen Interferenzringen der Ameisensäure[10] noch sichtbar sind (VII, IX, Tabelle 3, Abb. 6a und c). Beim vernetzten Sulfon-Fibroin wird durch die eingebauten Brücken eine Zerstörung der Kristallite weitgehend verhindert. Das Röntgenogramm der wieder mit Wasser gewaschenen Fasern entspricht in allen drei Fällen wieder einem normalen

[9] Wenn nicht anders angegeben, getrocknet.

[10] Vergleichsaufnahme: reine Ameisensäure (Tabelle 3, Abb. 8b).

Seidenröntgenogramm (mit Wasserhalos) (VIII, X, Tabelle 3, Abb. 6b und d). Beim Auswaschen mit Wasser bleibt die Faser kontrahiert. Sie läßt sich aber auf die ursprüngliche Länge dehnen.

4. Verhalten gegen Cupriäthylendiamin.

Cupriäthylendiamin (6/8), das heißt eine Lösung von 6 g $Cu(OH)_2$ und 8 g Äthylendiamin in 100 ccm Wasser, löst nach *Coleman* und *Howitt*[7] unbehandeltes Fibroin molekular auf. Vernetztes Fibroin wird nicht gelöst, sondern kontrahiert nach wenigen Sek. um 60%. Die kontrahierte Faser ist vio-

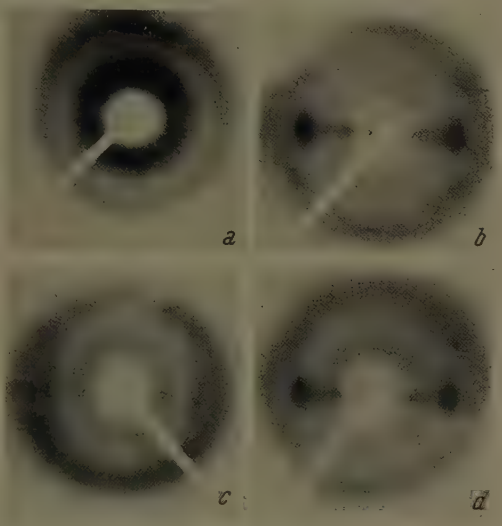


Abb. 6. Röntgenogramme: a) Unbehandeltes Fibroin mit Ameisensäure gequollen und 22 bis 24% kontrahiert. b) Unbehandeltes Fibroin mit Ameisensäure gequollen und 22 bis 24% kontrahiert, Säure mit Wasser ausgewaschen. c) Vernetztes Fibroin mit Ameisensäure gequollen und 2 bis 4% kontrahiert. d) Vernetztes Fibroin mit Ameisensäure gequollen und 2 bis 4% kontrahiert, Säure mit Wasser ausgewaschen.

Tabelle 4. Einige Röntgeninterferenzen von Sulfon-Fibroin-präparaten (Cupriäthylendiamin-Versuche).

Nr.	Präparat [11]	d (Å)	Lage	Intensität	Ausbildung
XI	Sulfon-Fibroin mit Cupriäthylendiamin kontrahiert, mit Wasser gewaschen	6,5	Ring	st	scharf
		3,6—5,7	breiter Ring	m	diffus
XII	Sulfon-Fibroin mit Cupriäthylendiamin kontrahiert, mit Wasser gewaschen, wieder voll gedehnt	6,5	Ring	st	scharf
		4,33	Äquator	st	scharf
XIII	Sulfon-Fibroin mit Cupriäthylendiamin kontrahiert, mit n/10 HCl ausgewaschen	9,2	Ring	st	scharf
		3,6—4,8	Ring	st	diffus
		Max. 4,26			
XIV	Sulfon-Fibroin mit Cupriäthylendiamin kontrahiert, mit n/10 HCl ausgewaschen, wieder voll gedehnt	9,2	Äquator	st	scharf
		4,7	Äquator	s	
		4,3	Äquator	st	scharf
		3,5	Meridian	s	scharf

[11] Wenn nicht anders angegeben, getrocknet.

lettbraun gefärbt. Das komplex gebundene Kupfer läßt sich mit Wasser nicht auswaschen. Eine kurze Behandlung mit 0,1 n HCl zerstört den Cu-en-Proteinkomplex und löst das Kupfer heraus, wobei die Faser wieder ihre ursprüngliche gelbe Farbe annimmt.

Wie die in Salzsäure, so sind auch die in Cupriäthylendiamin kontrahierten Fäden kautschukelastisch. Im trockenen Zustande sind sie fest. Solange das Kupfer komplex eingebaut ist, sind die kontrahierten Fasern im feuchten Zustand kautschukelastisch und lassen sich nicht durch Dehnen verfestigen. Sie werden aber beim Dehnen sofort fest, wenn man das komplex gebundene Kupfer mit Säure entfernt.

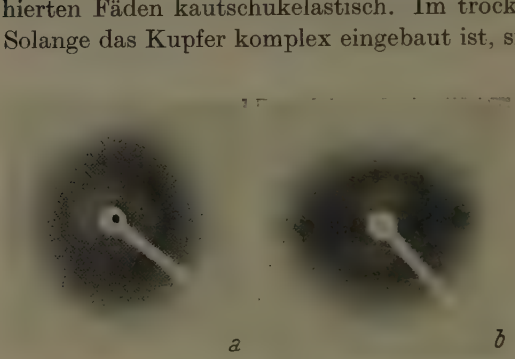


Abb. 7. Röntgenogramme: a) Vernetztes Fibroin mit Cupriäthylendiamin 60% kontrahiert. b) Vernetztes Fibroin mit Cupriäthylendiamin 60% kontrahiert und wieder voll gedehnt. c) Vernetztes Fibroin mit Cupriäthylendiamin 60% kontrahiert und mit 0,1 n HCl ausgewaschen. d) Vernetztes Fibroin mit Cupriäthylendiamin 60% kontrahiert, wieder voll gedehnt und mit 0,1 n HCl ausgewaschen.

Das Röntgenogramm der kupferhaltigen Fasern zeigt im kontrahierten Zustand einen scharfen Ring bei 6,5 Å und daneben einen diffusen bandförmigen Ring von 3,6 bis 5,7 Å (XI, Tabelle 4, Abb. 7a). Das Röntgenogramm der gedehnten Faser enthält denselben scharfen Ring bei 6,5 Å und einen scharfen Äquatorreflex bei 4,3 Å, der dem üblichen „backbone"-Reflex der Seide (4,33 Å) entspricht (XII, Tabelle 4, Abb. 7b). Entfernt man das gebundene Kupfer mit 0,1 n HCl, so treten im Röntgenogramm der kontrahierten Faser zwei Ringe bei 9,2 und 4,26 Å auf, die wie beim mit konz. Salzsäure kontrahierten Fibroin den desorientierten Kristalliten des Fibroins zuzuordnen sind (XIII, Tabelle 4, Abb. 7c). Dehnt man das Präparat, so erhält man ein normales Fibroinröntgenogramm (XIV, Tabelle 4, Abb. 7d).

Wir glauben, daß das Kupfer in den Kristalliten an die Peptidgruppen gebunden ist und daher auch beim Auswaschen oder beim Trocknen ein Einschnappen der benachbarten Peptidketten zum laminaren, durch

Wasserstoffbrücken verbundenen Kettenrost (vgl. *H. Nowotny* und *H. Zahn*[12]) zum größten Teil verhindert.

Zu ähnlichen Ergebnissen bei Versuchen an Wolle kamen *C. S. Whewell* u. a.[13] (siehe Diskussion). Ebenso vermuteten *Coleman* und *Howitt*[7] bei der Darstellung des löslichen Fibroins eine komplexe Bindung des Kupfers an die Peptidbindungen des Fibroins.

Beim Auswaschen mit verdünnter Salzsäure wird der Cu-en-Proteinkomplex zerstört und die Wasserstoffbrücken in den Kristalliten zurückgebildet. Die Faser bleibt aber kontrahiert, da die Kristallite desorientiert sind.

Ähnliche Ergebnisse sollten auch bei Behandlung mit Kupferammoniumhydroxyd, Nickelammoniumhydroxyd und Nikkeläthylendiamin zu erwarten sein. Entsprechende Versuche stehen noch aus.

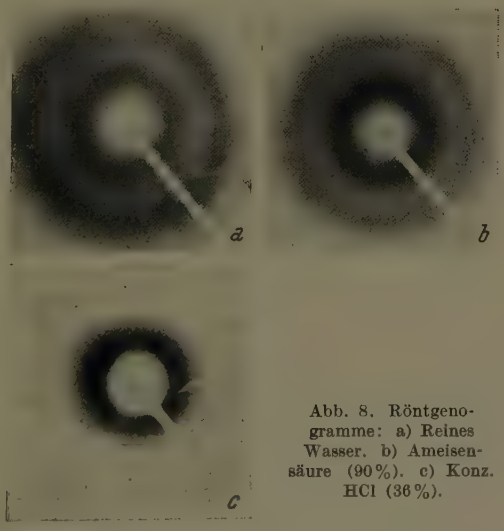


Abb. 8. Röntgenogramme: a) Reines Wasser. b) Ameisensäure (90%). c) Konz. HCl (36%).

5. Verhalten gegen Lithiumbromid.

Nach *von Weimarn*[14] löst sich Fibroin in wäßrigem Lithiumbromid nach kurzer Behandlung bei mittleren Temperaturen (70° C) auf. Läßt man auf vernetztes Sulfon-Fibroin eine 60%ige wäßrige Lithiumbromidlösung einwirken, so findet auch hier die gleiche Kontraktion wie mit konz. Salzsäure oder Cupriäthylendiamin statt. Die Faser kontrahiert um 63%. Die mit Wasser ausgewaschene Faser zeigt ein desorientiertes Seidenröntgenogramm (XV, Tabelle 5, Abb. 5c).

Die kontrahierte und ausgewaschene Faser ist kautschukelastisch, wird aber beim Dehnen auf die ursprüngliche Länge und auch beim

---

[12] *H. Nowotny* und *H. Zahn*, Z. physik. Chem., Abt. B **51**, 265 (1942); Z. physik. Chem. **192**, 333 (1943).

[13] *C. S. Whewell* und *H. J. Woods*, Nature **154**, 546 (1944). — Célébration du 75me Anniversaire de l'A. I. G. Congrès international des Sciences appliquées à l'Industrie Textile, S. 103. Ghent. 1951. — *C. S. Whewell* und *J. W. Bell*, J. Soc. Dyers Col. **68**, 299, 305 (1952).

[14] *P. P. von Weimarn*, Canad. Chem. Met. **10**, 227 (1926). — Siehe auch *E. J. Ambrose*, *C. H. Bamford*, *E. Elliot* und *W. E. Hanby*, Nature **167**, 264 (1951).

Tabelle 5. Einige Röntgeninterferenzen von Sulfon-Fibroin-präparaten (Lithiumbromid-Versuche).

Nr.	Präparat[15]	d (Å)	Lage	Intensität	Ausbildung
XV	Sulfon-Fibroin mit Lithiumbromid kontrahiert, mit Wasser gewaschen	9,2	Ring	st	scharf
		3,6—4,8 Max. 4,3	Ring	st	diffus
XVI	Sulfon-Fibroin mit Lithiumbromid kontrahiert, mit Wasser gewaschen und voll gedehnt	9,2	Äquator	st	scharf
		4,8	Äquator	st	scharf
		4,33	Äquator	st	scharf
		3,5	Meridian	s	

Trocknen fest, wobei das normale Seidenröntgenogramm wieder erscheint (XVI, Tabelle 5, Abb. 5d). Eine analoge Kontraktion mit Lithiumbromid bei Wolle fand *Alexander*[16]. Die Wolle kontrahiert dabei um 14%. Dabei tritt ein desorientiertes β-Keratin (d-Keratin)-röntgenogramm auf. Interessant ist hier das unterschiedliche Verhalten von Wolle bei der Behandlung von Lithiumbromid und von Kupferammoniumhydroxyd *(Whewell)*.

6. Diskussion der Ergebnisse.

a) Löslichkeitsversuche.

Es ist wohlbekannt, daß die Löslichkeit vernetzter Makromoleküle geringer ist als diejenige linearer Kettenmoleküle. Eines der ersten Beispiele lieferte Styrol. Dieses ist in Benzol leicht löslich, es wird jedoch nach Einbau von Hauptvalenzquerbrücken, z. B. durch Copolymerisation mit Divinylbenzol darin unlöslich und quillt nur noch[17].

Wichtige Beispiele aus der Chemie der Faserproteine liefern Kollagen und Keratin. Während unbehandeltes Haut- oder Sehnenkollagen in heißem Wasser schon bei 65° C stark schrumpft und verleimt, hält mit Formaldehyd behandeltes und Querbrücken enthaltendes Kollagen höhere Temperaturen aus. Aus der Thermodynamik der Schrumpfungsvorgänge konnten *Weir* und *Carter*[18] die Zahl und den Abstand der Querbrücken längs der Faserrichtung berechnen.

Wolle enthält etwa 12% Cystin. Diese Bisaminosäure kann — neben der normalen Peptidbindung — über ihre Disulfidgruppe (—S—S—) eine Brücke zwischen zwei verschiedenen Ketten bilden. Je nachdem ob die Brücke quer oder parallel zu den Hauptketten liegt, handelt es

[15] Wenn nicht anders angegeben, getrocknet.

[16] *P. Alexander*, Melliand Textilber. **31**, 550 (1950).

[17] *H. Staudinger* und *W. Heuer*, Ber. dtsch. chem. Ges. **67**, 1164 (1934). — *H. Staudinger* und *E. Husemann*, ibid. **68**, 1618 (1935).

[18] *C. E. Weir* und *J. Carter*, J. Res. Nat. Bur. Standards **44**, 599 (1950).

sich um Quer- oder Längsbrücken. Solche Längsbrücken wurden erstmalig von dem einen von uns diskutiert[19].

Während unbehandelte Wolle mit intakten Cystinbindungen bei 65° C in 0,1 n NaOH nur 12% Substanz abgibt, verliert reduzierte Wolle, deren Cystinbindungen zur Hälfte in Cysteingruppen gespalten sind, 50% ihres Gewichtes bei der gleichen Behandlung. Unbehandelte Wolle ist gegen Pankreatin recht beständig. Reduzierte Wolle wird dagegen enzymatisch stark angegriffen[20].

Auf der Grundlage dieser und vieler anderer Erfahrungen der makromolekularen Chemie kann man mit hoher Wahrscheinlichkeit aus den oben beschriebenen Versuchen an Seide schließen, daß die mit FF-Sulfon behandelten Präparate echte Hauptvalenzquerbrücken enthalten, und daß die Diphenylsulfonbrücken verschiedene Ketten verbinden. Diese Annahme erklärt alle beschriebenen Experimente, die Unlöslichkeit der Sulfonseide in den typischen Lösungsmitteln für unbehandeltes Fibroin, wie Cupriäthylendiamin, Lithiumbromid, und die Tatsache, daß konz. Salzsäure unbehandeltes Fibroin sofort, Sulfon-Fibroin aber erst nach 5 Stdn. nach Einsetzen des hydrolytischen Abbaus löst (siehe Abb. 9a und b).

Der an sich mögliche Einwand, daß vielleicht die Anwesenheit zahlreicher Dinitrodiphenylsulfongruppen auch bei einseitiger Verankerung im Proteinverband zufolge der starken Nebenvalenzkräfte aromatischer Nitroverbindungen bereits eine Stabilisierung der Seide hervorruft, wurde entkräftet, da mit dem monofunktionellen F-Sulfon umgesetztes Fibroin ähnlich leicht löslich ist wie unbehandeltes Fibroin, obwohl das monosubstituierte Präparat doppelt soviel Dinitrodiphenylsulfongruppen enthält wie das Sulfon-Fibroin[21].

b) Superkontraktion.

Der Ausdruck Superkontraktion stammt aus der Nomenklatur der Keratinphysik. Superkontraktion bedeutet hier streng genommen nach *Astbury*[22], daß ein gedehntes Keratinhaar unter gewissen Voraussetzungen bei der Relaxation nicht nur seine ursprüngliche Länge wieder erreicht, sondern sich darüber hinaus verkürzt.

Später wurde Superkontraktion jede Verkürzung von Keratinfäden

---

[19] *H. Zahn*, Dissertation Karlsruhe (1940).

[20] *E. Elöd* und *H. Zahn*, Melliand Textilber. **27**, 68 (1946).

[21] Eine geringe Stabilisierung wird auch durch monofunktionellen Umsatz mit p-Fluor-m,m'-dinitrodiphenylsulfon erreicht. Doch ist der Effekt relativ gering.

[22] *W. T. Astbury* und *H. I. Woods*, Phil. Trans. Roy. Soc. London, Ser. A **232**, 333 (1933).

genannt, welche eine molekulare Veränderung zur Voraussetzung hat, auch wenn man von einer ungedehnten Faser ausgeht.

Elöd, Nowotny und der eine von uns[23] unterscheiden verschiedene Typen von Superkontraktion, je nachdem ob das Röntgenogramm des Keratins im α-Zustand verbleibt oder in β-Keratin umgewandelt wird. Behandlungen mit Natronlauge, Natriumsulfid, Kaliumcyanid *(Speakman)*, Kupferammoniumhydroxyd *(Whewell[13])* verkürzen Keratinhaare, und das α-Keratin bleibt erhalten, wenn auch eine gewisse Desorientierung der Reflexe gefunden wird. Kochen mit 5%iger Natriumbisulfitlösung *(Speakman[24])*, trockenes Erhitzen *(Zahn[25])*, Erhitzen mit Formamid (*Elöd* und *Zahn*[26]) und Erhitzen mit Lithiumbromid *(Alexander[16])* führen zu einer Schrumpfung von 14 bis 50% und zu einer Umwandlung von α- in β-Keratin. Das β-Keratinröntgenogramm ist desorientiert und wurde wegen seiner Ähnlichkeit zum Röntgenogramm denaturierter Proteine d-Keratin (= desorientiertes β-Keratin) genannt. *Elöd* und *Zahn* beschrieben diese Röntgenogramme vor einigen Jahren eingehend[27].

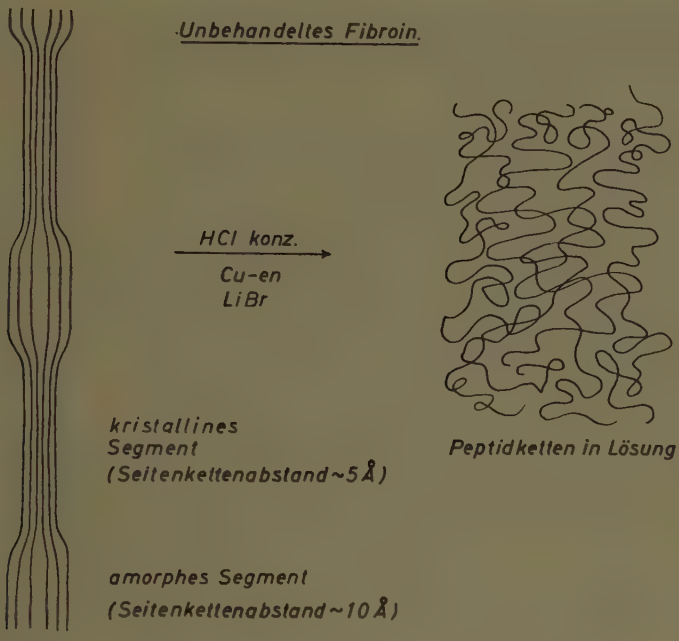
Unsere Vorstellungen über das Wesen der Superkontraktion von Keratinfasern sind kurz skizziert wie folgt: Sobald die Wasserstoffbrücken zwischen den Polypeptidketten gelöst werden, sind diese Ketten in zwei Dimensionen frei und werden gewissermaßen verflüssigt. Sie werden jetzt entsprechend der Tendenz zur Vermehrung der Entropie bestrebt sein, einen desorientierten Zustand anzunehmen. Das bedeutet aber, daß sich die zunächst mehr oder weniger gut orientierten Ketten verkürzen und der Gestalt nähern, welche die statistisch-kinetische Theorie fordert. Nach Entfernung der Superkontraktionsmittel werden die Nebenvalenzkräfte zwischen den Ketten wieder wirksam. Es erfolgt erneut Kristallisation, aber die desorientierten Ketten können sich von selbst nicht wieder orientieren. Die Ketten kristallisieren in desorientierten Lagen. Als Resultat findet man ein d-Keratinröntgenogramm.

Komplizierend ist die Tatsache, daß während der Superkontraktion eine Umwandlung von α- in β-Keratin erfolgt, obwohl eine solche normalerweise beim Dehnen und nicht beim Verkürzen erreicht wird. Wir nahmen an, daß sich aus thermodynamischen Gründen diese entfaltete Form auch dann bilden muß, wenn die Faser sich verkürzt. Zwischen der Länge der Faser und der Länge der Kristallite besteht kein einfacher und direkter Zusammenhang.

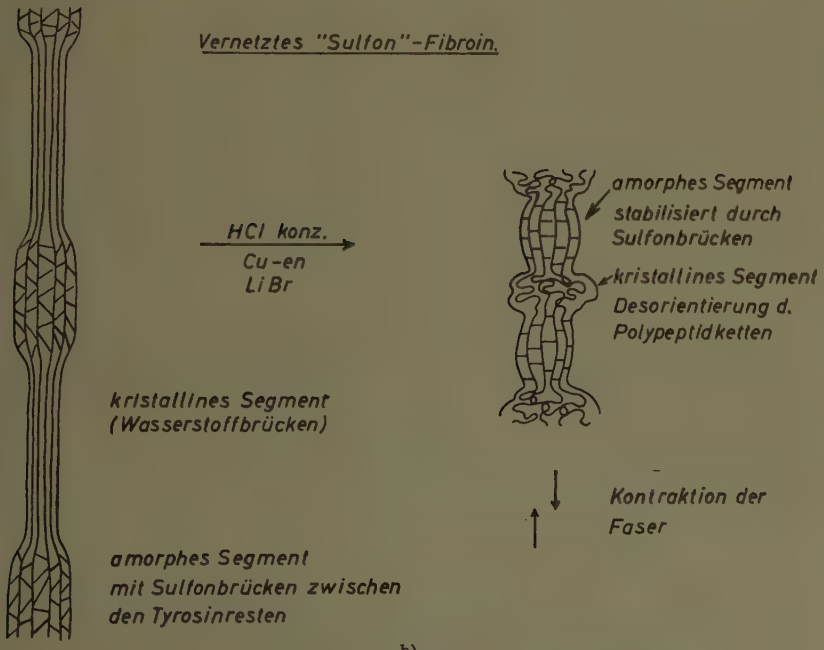
Die Superkontraktionsmittel sind entweder Hitze oder Chemikalien

---

[23] *E. Elöd, H. Nowotny* und *H. Zahn*, Kolloid-Z. **100**, 283 (1942).
[24] *I. B. Speakman*, Nature **138**, 327 (1936).
[25] *H. Zahn*, Naturwiss. **31**, 137 (1943).
[26] *E. Elöd* und *H. Zahn*, Kolloid-Z. **108**, 94 (1944).
[27] *E. Elöd* und *H. Zahn*, Melliand Textilber. **28**, 2, 217, 253, 291 (1947); **30**, 17 (1949).


Unbehandeltes Fibroin.
HCl konz.
Cu-en
LiBr
kristallines
Segment
(Seitenkettenabstand ~5 Å)
amorphes Segment
(Seitenkettenabstand ~10 Å)
Peptidketten in Lösung

a)


Vernetztes "Sulfon"-Fibroin.
HCl konz.
Cu-en
LiBr
kristallines Segment
(Wasserstoffbrücken)
amorphes Segment
mit Sulfonbrücken zwischen
den Tyrosinresten
amorphes Segment
stabilisiert durch
Sulfonbrücken
kristallines Segment
Desorientierung d.
Polypeptidketten
Kontraktion der
Faser

b)

Abb. 9.

bei mäßig erhöhten Temperaturen. Man kann die Wirksamkeit der Superkontraktionsmittel durch Angabe der erforderlichen Schrumpfungstemperatur charakterisieren. Wir fanden folgende Reihe:

Unbehandeltes Keratin:	Formamid	115° C,
	Phenol	85° C.
Reduziertes Keratin:	Phenol	45° C.

Chemisch wesentlich ist die Tatsache, daß die Cystinbindungen, welche von Formamid und Phenol nicht oder höchstens nur sehr geringfügig angegriffen werden, dafür sorgen, daß das Keratingerüst nicht völlig zusammenbricht und die Faser in Lösung geht, wenn man sie mit Wasserstoffbrücken spaltenden Reagenzien behandelt (Typ: Superkontraktion durch Wasserstoffbrückenspaltung). Von *Alexander*[28] wurden diese Gedankengänge anschaulich weiterentwickelt. Er unterscheidet zwischen zwei Typen von Superkontraktion: Superkontraktion durch Angriff auf die Wasserstoffbrücken in den kristallinen, cystinarmen Segmenten der Keratine und Superkontraktion durch Spaltung der Cystinbindungen in den cystinreichen Segmenten ohne Zerstörung der α-Keratinstruktur.

Wir gelangen sofort zur Analogie zum Fibroin (Abb. 9a und b). Das vernetzte Fibroin ist ein Modell für Wolle, insofern als an Stelle der cystinreichen Segmente in Wolle die tyrosinreichen und am Tyrosin überbrückten Segmente in Seide treten. Diese werden infolge der Sulfonbrücken von den Lösungsmitteln Cupriäthylendiamin und Lithiumbromid nicht aufgelöst. Diese Mittel greifen in der Hauptsache die brückenfreien Segmente an und befreien die Ketten in zwei Dimensionen. Die befreiten Ketten desorientieren. Nach dem Auswaschen der Mittel und Trocknen erhält man ein desorientiertes Röntgenogramm, das ganz dem d-Keratinröntgenogramm entspricht; allerdings ist es ein Fibroinröntgenogramm und kein β-Keratinröntgenogramm. Dehnt man die kontrahierten Fibroinfäden, so richten sich die desorientierten Ketten bzw. Kristallite wieder auf und man erhält wiederum ein orientiertes, normales Fibroinröntgenogramm.

Voraussetzung der Superkontraktion der vernetzten Seide ist unzweifelhaft das Vorhandensein eines genügend langen tyrosinbrückenfreien Segments[29], weil nach den bekannten Beziehungen von *Werner Kuhn*[30] sowie *Flory*[31] das Auftreten kautschukelastischer Eigenschaften nur dann beobachtet wird, wenn die Länge der Kettenmolekülteile, welche frei von Brücken sind, eine genügend große ist. Man könnte durch genaue

---

[28] *P. Alexander*, Kolloid-Z. **122**, 8 (1951).

[29] Dieses läßt sich auch aus der ausnehmend starken Kontraktion von 63% erkennen.

[30] *W. Kuhn*, Angew. Chem. **49**, 858 (1936); **51**, 640 (1938); **52**, 289 (1939).

[31] *P. J. Flory* und *J. Rehner*, Jr., J. Chem. Physics **11**, 52 (1943).

Messungen des Elastizitätsmoduls der superkontrahierten Sulfonseide wertvolle Rückschlüsse auf diese Länge der tyrosinbrückenfreien Segmente erhalten. Solche Messungen konnten aus technischen Gründen bisher nicht durchgeführt werden.

Doch glauben wir, daß die qualitativen Beobachtungen zum mindesten den Befunden von *Smith*[32], der relativ lange, tyrosinfreie Bruchstücke, bestehend aus 55 Aminosäuren mit einer Länge von $55 \times 3{,}5$ Å (Höhe eines Aminosäurerestes) = 200 Å isolieren konnte, nicht widersprechen.

Somit haben die beschriebenen Versuche qualitativ gezeigt, daß

1. die Dinitrodiphenylsulfonreste als Brücken *verschiedene* Ketten verbinden,

2. die Länge der tyrosinbrückenfreien Segmente des Fibroins relativ groß ist,

3. vernetztes Fibroin den Vorgang der Superkontraktion zeigt, wenn man es mit wasserstoffbrückenspaltenden Mitteln behandelt. Die Superkontraktion vom Typus der Wasserstoffbrückenspaltung, die auch beim Keratin mehrfach angetroffen wurde, ergibt wie dort ein ähnlich desorientiertes Fibroin-(β-Keratin)-röntgenogramm.

c) Einbau von Cupriäthylendiamin in das Seidenfibroin.

Bei der Superkontraktion mit Cupriäthylendiamin wird das Kupfer nach Spalten der Wasserstoffbrückenkomplexe an die Peptidgruppen sowohl des kristallinen als auch des amorphen Bereiches der Faser gebunden. Wahrscheinlich ist ein Kupferatom mit zwei Peptidbindungen der Polypeptidkette komplex verbunden (siehe *Coleman* und *Howitt*[7, 33]. Ein Einschnappen der Wasserstoffbrücken nach dem Auswaschen mit Wasser (wie bei der Salzsäure- oder Lithiumbromidkontraktion) wird durch den eingebauten Kupferkomplex verhindert. Im Röntgenogramm läßt sich der Ring bei 6,5 Å vielleicht einer Periode im Cu-Fibroinkomplex zuordnen.

Einen analogen Kontraktionsvorgang hatten *Whewell* u. a.[13] beim Behandeln von Wolle mit Kupferammoniumhydroxyd bzw. Nickelammoniumhydroxyd erhalten. Wolle kontrahiert dabei um 28 bis 32%. Die Faser liefert aber hier im Gegensatz zum Fibroin kein neues Röntgenogramm des Kupferkeratins, sondern das α-Keratinröntgenogramm verschwindet mit fortschreitender Kontraktion allmählich. Beim Auswaschen mit verdünnter Schwefelsäure erscheinen wieder die normalen Reflexe des α-Keratins. Dabei dehnt sich die Faser wieder nahezu auf

---

[32] *B. Ducker* und *S. G. Smith*, Nature **165**, 197 (1950); Shirley Institute Memoirs **26**, 191 (1953).

[33] Genauere Untersuchungen über die Menge des komplex gebundenen Kupfers bzw. Cupriäthylendiaminkomplexes sind noch im Gange.

die ursprüngliche Länge. Die Reversibilität dieses Kontraktions- bzw. Dehnungsvorganges wird auf das Vorhandensein der Disulfidbrücken zurückgeführt.

d) Ameisensäurequellung.

Etwas anders verhält sich das Fibroin bei den Ameisensäureversuchen. Ameisensäure hat offenbar nicht die starke wasserstoffbrückenspaltende Wirkung wie konz. Salzsäure, Cupriäthylendiamin und Lithiumbromid. Unbehandeltes Fibroin geht nämlich beim Behandeln mit Ameisensäure nicht in Lösung, sondern quillt stark bzw. kontrahiert und wird kautschukelastisch. Die Ketten oder Kettenbündel werden nur teilweise durch Spaltung der Wasserstoffbrücken befreit. Bei diesem Vorgang, der offensichtlich keine Superkontraktion vom Typ der Wasserstoffbrückenspaltung ist, sondern der α-Keratinsuperkontraktion mit KCN, NaOH, Na_2S entspricht, verschwindet zwar das normale Seidenröntgenogramm, es tritt aber beim Auswaschen der Säure sofort wieder auf. Es können daher die Ketten des kristallinen Teiles auch im gequollenen Zustand nicht desorientiert worden sein.

Beim vernetzten Fibroin tritt eine Kontraktion fast nicht auf, da die Ameisensäure noch weit weniger wirksam ist. Hier haben die eingebauten Sulfonbrücken eine Stabilisierung der Struktur bewirkt. In noch unbekannter Weise verhindern die eingebauten Brücken eine vorübergehende Zerstörung des Fibroingitters im gequollenen Fibroin. Der typische *Backbone*-Reflex des Fibroins verschwindet im Röntgenogramm nicht, sondern ist neben den Ameisensäurehalos noch als Sichel sichtbar.

Experimenteller Teil.

a) Umsetzung von p,p'-Difluor-m,m'-dinitrodiphenylsulfon mit Seidenfibroin (Vernetzungsreaktion).

In einem 100-ccm-Kölbchen mit Rührer werden 550 mg Difluordinitrodiphenylsulfon und 300 mg Natriumbikarbonat in einem Gemisch von 20 ccm Aceton und 20 ccm Wasser unter starkem Rühren mit 408 mg Seidenfibroin[34] 15 Stdn. zur Reaktion gebracht. Die Temp. betrug 45° C. Nach beendeter Reaktion wird durch eine Glasfritte scharf abgesaugt und nochmals mit Aceton und Wasser gewaschen. Anschließend wird die Faser 12 Stdn. in mehreren Chargen Aceton 24 Stdn. in Wasser und 12 Stdn. in 3% Essigsäure stehengelassen. Nach gründlichem Auswaschen mit Aceton und Wasser wird an der Luft getrocknet. Nach 2stündigem Erhitzen der Faser im Trockenschrank auf 105° C und Abkühlen wird die Faser zurückgewogen. Die Gewichtszunahme betrug 34,3 mg (= 8,4% der Einwaage). Resttyrosingehalt: 3,27%, Tyrosinumsatz: 74%.

---

[34] Das Seidenfibroin war 2 Stdn. bei 105° C im Trockenschrank getrocknet und im geschlossenen Wägeglas nach dem Abkühlen gewogen worden. Tyrosingehalt 12,6%.

Das Sulfon-Fibroin wurde in trockenem Zustande zu den folgenden Versuchen verwendet:

b) Kontraktion des Sulfon-Fibroins in konz. Salzsäure (36%).

Ein etwa 10 cm langes Faserbündel des gelb gefärbten Sulfon-Fibroins wird in einem Spannrahmen 60 Sek. in konz. Salzsäure (36%) getaucht. Nach etwa 45 Sek. schrumpft das Faserbündel unter Quellen auf eine Länge von 4,7 cm zusammen. Die Säure wird gut mit Wasser ausgewaschen. Dabei findet eine weitere Kontraktion bis auf 3,7 cm statt. Die Fasern sind im feuchten Zustande kautschukelastisch. Beim Trocknen des Bündels an der Luft verschwindet die Kautschukelastizität, die aber sofort beim Anfeuchten mit Wasser auftritt. Die kontrahierte, mit Wasser gewaschene Faser wurde im feuchten wie auch im trockenen Zustande röntgenographiert. (I, V, Tabelle 2, Abb. 4a, 5a) = kontrahiertes Präparat; (II, III, IV, Tabelle 2, Abb. 4b bis d) = gedehnte Präparate.

c) Quellungsversuche mit Ameisensäure (90%).

Unbehandeltes sowie vernetztes Fibroin wurden mit 90% Ameisensäure behandelt. Dabei kontrahierte im Spannrahmen ein 10 cm langes Faserbündel des unbehandelten Fibroins unter starkem Quellen auf 7,8 bis 7,6 cm. Das mit FF-Sulfon vernetzte Fibroin kontrahierte nur auf etwa 9,7 cm, während das mit dem entsprechenden monofunktionellen p-Fluor-m,m'-dinitrodiphenylsulfon umgesetzte Fibroin die gleiche Kontraktion wie das unbehandelte Fibroin zeigt. Das mit Ameisensäure kontrahierte unbehandelte Fibroin und das monofunktionell umgesetzte Fibroin sind kautschukelastisch, während das vernetzte Fibroin diese Eigenschaft nicht zeigt. Die kontrahierten Fasern wurden — mit Ameisensäure angefeuchtet — röntgenographisch untersucht (VII, IX, Tabelle 3, Abb. 6a und c). Beim Trocknen oder beim Auswaschen der Ameisensäure mit Wasser bleiben die Fasern zwar weitgehend kontrahiert, verlieren aber sofort ihre Kautschukelastizität und werden fest. Röntgenogramm der mit Wasser befeuchteten Faser (VIII, X, Tabelle 3, Abb. 6b und d).

d) Kontraktion des Sulfon-Fibroins mit Cupriäthylendiamin.

Ein 10 cm langes Faserbündel wird im Spannrahmen 5 Min. in eine Lösung von Cupriäthylendiamin (hergestellt durch Lösen von 6 g $Cu(OH)_2$ in 8 g Äthylendiamin und Auffüllen mit Wasser auf 100 ccm) getaucht. Das auf 4 cm geschrumpfte Faserbündel wird gut mit Wasser gewaschen und der Spannrahmen mehrere Stunden in Wasser gestellt, das mehrmals gewechselt wird, bis das Waschwasser durch überschüssiges Cupriäthylendiamin nicht mehr violett gefärbt wird. Das Faserbündel wurde trocken sowohl im kontrahierten als auch wieder vollständig gedehnten (10 cm) Zustand röntgenographiert (XI, XII, Tabelle 4, Abb. 7a und b).

Legt man das mit Cupriäthylendiamin kontrahierte violettbraune Faserbündel in der Kälte in 0,1 n HCl, so wird das komplex gebundene Cupriäthylendiamin herausgelöst, wobei die nun wieder gelbe Faser kontrahiert bleibt. Röntgenogramm (XIII, Tabelle 4, Abb. 7c).

Auch im gestreckten Zustande läßt sich aus der mit Cupriäthylendiamin umgesetzten Faser mit 0,1 n HCl das Kupfer wieder herauslösen. Dabei erscheint das normale Seidenröntgenogramm (XIV, Tabelle 4, Abb. 7d).

e) Kontraktion des Sulfon-Fibroins mit Lithiumbromid.

Ein Faserbündel von 10 cm Länge wird mit 60% wäßr. Lithiumbromidlösung 1 Std. bei 70° C behandelt. Es kontrahiert dabei auf eine Länge von 3,7 cm. Nach gründlichem Auswaschen mit Wasser wurde die kontrahierte, trockene Faser röntgenographisch untersucht (XV, Tabelle 5, Abb. 5c). Beim Dehnen der Faser entsteht das normale Seidenröntgenogramm (XVI, Tabelle 5, Abb. 5d).

Die Röntgenaufnahmen wurden in einer Faserflachkammer mit 0,3 mm weiter Rundblende bei einem Präparat-Filmabstand von 29 mm hergestellt. Die Betriebsspannung betrug 32 kV und die Belichtungszeit der Aufnahmen bei 20 mA (Cu-K_α-Strahlung) 1,5 Stdn.

Wir danken dem Internationalen Wollsekretariat, London und Düsseldorf, sowie der Deutschen Forschungsgemeinschaft in Bad Godesberg für die Förderung der vorliegenden Arbeit. Herrn Diplomchemiker *W. Gerstner* danken wir für die Anfertigung von Röntgenaufnahmen.

Über die Bestimmung von Purinen in coffeinhaltigen Drogen*.

Von

H. Michl und F. Haberler.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

Mit 5 Abbildungen.

(Eingelangt am 24. März 1954.)

Mit Hilfe zum Teil neu entwickelter papierchromatographischer und papierelektrophoretischer Verfahren wird an sechs coffeinhaltigen Drogen eine qualitative und quantitative Purinanalyse durchgeführt, wobei versucht wird, die Purine bis zu einem Gehalt von $10^{-3}\%$ zu erfassen.

Die bekannten Methoden[1–12,**] zur Routinebestimmung von Purinen in coffeinhaltigen Drogen bzw. in wäßrigen Aufgüssen oder Lösungen beschränken sich im wesentlichen auf die Bestimmung des Coffeins und Theobromins, lassen sich aber in geeigneter Form auch auf Theophyllin[13] anwenden. Sie beruhen auf dem Prinzip, das betreffende Xanthinderivat aus seinen Verbindungen in Freiheit zu setzen, es dann mit geeigneten Lösungsmitteln möglichst quantitativ zu extrahieren und schließlich im Extrakt — eventuell nach Reinigung — den Gehalt zu bestimmen. Manche Methoden schreiben hierbei für fetthaltige Drogen (Kakao, Kaffee) eine vorhergehende Entfettung mit Petroläther vor.

Ein Vergleich dieser und ähnlicher Vorschriften zeigt, daß auf die alkalische Abspaltung der Purine entweder verzichtet werden kann[1,14] oder daß man sie mit feuchtem Magnesiumoxyd[3,9,10,15,16], wäßrigem Ammoniak[2,5,17–24] oder Natronlauge[6,13,25,26] durchführt. Auch feuchtes Calciumoxyd[27], Sodalösung[4] und tert. Natriumphosphat[28] kommen zur Anwendung, während *Oehrli*[29] bei Guaraná die Spaltung mit verdünnter Schwefelsäure vorzieht. Zur Extraktion erweisen sich außer Chloroform noch Tetrachlorkohlenstoff[1,5,20,27] und Tetrachloräthylen[9] sowie

* Herrn Prof. Dr. *Ludwig Ebert* zum 60. Geburtstag in Verehrung gewidmet.

** Die Fußnoten stehen am Schlusse dieser Arbeit.

Wasser[14, 15, 22, 26, 30–32] und Alkohol[3, 33] als geeignet. Auch Essigester[34] Benzol[35] und Gemische von Chloroform-Isopropylalkohol[13] bzw. Chloroform Phenol[36, 37] werden als Extraktionsmittel beschrieben. Die Beseitigung von Verunreinigungen kann vor oder nach der Extraktion geschehen. Hierzu können Schwefelsäure[3, 6, 13, 18, 19, 25], Wasserstoffsuperoxyd[2], Kaliumpermanganat[1, 2, 5, 14, 16, 20, 26, 27, 31] und Kupfersulfat[4, 20, 26, 28] dienen, auch Bleiacetat[14, 22, 31, 38], Aluminiumacetat[27], Zinkacetat und Kaliumcyanoferrat II[15, 23, 28] oder Zinkcyanoferrat-II[16] fällen Schwebstoffe und störende Verbindungen.

Für die Bestimmung der Methylxanthine steht eine Reihe gravimetrischer, titrimetrischer und optischer Verfahren zur Verfügung: Direkte Wägung des abgedampften Extraktes[10, 21, 30, 32], Wägung nach vorheriger Reinigung[1–6, 13, 14, 17–19, 25–27, 34], Wägung des aus Tetrachloräthylenlösung mittels Äther gefällten Theobromins[9, 39, 40], Fällung des Coffeins mit Silicowolframsäure und Wägen der geglühten Oxyde[41], quantitative Sublimation[29, 42], Fällung von Theophyllin mit Kupferacetat in absol. Methylalkohol[43], Berechnung aus dem Stickstoffgehalt nach *Kjeldahl*[1, 15, 17, 21, 28, 29, 31, 39, 40, 44], Fällung mit Jod und Rücktitration des Jodüberschusses[7, 11, 33, 45–48], Coffeintitration mit Kaliumbromat[20, 48, 49], Fällung mit ammoniakal. Silberlösung und Rücktitration des Ag^+-Überschusses nach *Volhard*[8, 37, 50–52], Fällung mit neutralem Silbernitrat und alkalimetrische Bestimmung der in Freiheit gesetzten Salpetersäure[12, 14, 24, 53, 54], Titration von Coffein mit Perchlorsäure in wasserfreier Ameisensäure[55–57], Nephelometrie der Fällung von Coffein mit Natriumphosphorwolframat[58], Kolorimetrie von angefärbtem Adenin[59] und schließlich refraktometrischer[17] oder spektrophotometrischer[16, 35, 60–62] Vergleich von Purin- und Standardlösungen.

Die Mehrzahl der Extraktionsmethoden liefert als Resultat die Summe von zwei oder mehreren Purinen, doch läßt sich unter geeigneten Arbeitsbedingungen auch die Bestimmung mehrerer Purine nebeneinander durchführen[8, 15, 62–64].

In den letzten Jahren wurden auch Chromatographierkolonnen mit Aluminiumoxyd[65] oder Stärke[66, 67], Gegenstromverteilung[68] und Ionenaustauscher[69–73] zur Trennung oder Reinigung von Purinen verwendet, vor allem aber bot die Entwicklung der Papierchromatographie (vgl. die Monographien[74–76]) und der Papierelektrophorese neue Möglichkeiten für die Analyse von Puringemengen. Die Trennung von Oxy- und Aminopurinen durch Papierchromatographie wurde zuerst von *Vischer-Chargaff*[77] und von *Hotchkiss*[78] durchgeführt, denen Arbeiten von *Markham* und *Smith*[79–83], *Carter*[84] und *Löfgren*[85] folgten. Xanthin und seine Methylderivate wurden ebenfalls von *Markham-Smith*[80], ferner von *Munier* und *Macheboeuf*[86, 87] und *Kogan* und Mitarb.[88] untersucht. Die papierelektrophoretische Auftrennung von Oxy- und Aminopurinen beschrieben *Wieland-Bauer*[89], *Dimroth* und Mitarb.[90], *Ghosh* und *Burma*[91, 92] und *Werkheiser-Winzler*[93], die Trennung eines Coffein-Chinin-Gemisches *Scholz-Hagedorn*[94].

Die Purine lassen sich auf dem Papier auf Grund ihrer charakteristischen UV-Absorption oder durch Bildung von Metallsalzkomplexen auffinden. So erscheinen sie unter der UV-Lampe bei Verwendung geeigneter Filter als dunkle Flecken auf fluoreszierendem Grund[78–80, 84, 85, 88, 92, 95] und können auf Spezialphotopapier kopiert werden[79, 80, 96]. Die unveränderten Purine bleiben hierbei weiteren Untersuchungen zugänglich. Man kann auch das Papier mit Fluoreszeinlösung besprühen[89] oder durch Chlorwasser-oxydation[97] die Verwendung spezieller UV-Filter umgehen. Einige Oxy-

und Aminopurine bilden Quecksilbersalzkomplexe, die durch Ammonsulfid[77], Eosin oder Bromphenolblau[97] sichtbar werden. Adenin und Guanin geben auch eine Färbung mit $AgNO_3$ und $Na_2Cr_2O_7$[98], Theobromin und Theophyllin mit Bi- oder Pt-Salz und KJ[99]. Erwähnt sei noch die automatische Papyrographie nach *Hashimoto-Mori*[100].

Die quantitative Bestimmung der Purine wird meist spektrophotometrisch nach Ausschneiden und Eluieren der im UV-Licht markierten Purinflecke[77, 79, 80, 84, 88, 93, 95] oder nach systematischem Zerschneiden und Eluieren des ganzen Streifens[78] durchgeführt.

Es erhob sich nun die Frage nach dem Vorkommen der verschiedenen Purinderivate in coffeinhaltigen Drogen, da z. B. im Tee neben Coffein auch Theophyllin, Methylxanthin, Adenin, Guanin und andere[101] sowie Theobromin, Hypoxanthin und Xanthin[102] und in geringer Menge Tetramethylharnsäure[103] gefunden wurden, während z. B. über Guaraná unseres Wissens in dieser Hinsicht noch keine Ergebnisse bekannt sind. Hierzu waren Methoden zu finden, die nicht nur eine möglichst vollzählige Erfassung und Bestimmung der Purine erlauben, sondern auch empfindlich genug sind, um Spuren wenigstens qualitativ mit Sicherheit erkennen zu können. Die herkömmlichen Analysenmethoden erschienen hierzu nicht genügend erfolgversprechend, sodaß die Wahl auf die empfindlichen und sehr spezifischen Verfahren der Papierchromatographie und -elektrophorese fiel. Dazu kam, daß diese Verfahren — abgesehen von den Untersuchungen über Nucleinsäuren und ihre Bestandteile sowie über künstliche Puringemische — bisher nur in Einzelfällen[88, 89] auf purinhaltige Pflanzen angewendet worden sind. Bei unserer Arbeit legten wir besonderen Wert auf die Untersuchung hinsichtlich Coffein, Theobromin, Theophyllin, Adenin, Guanin, Xanthin und Hypoxanthin und versuchten, diese Purine bis zu einer Konzentration von $10^{-3}\%$ zu erfassen.

Untersuchtes Material.

Zur Untersuchung dienten bis zu 100 g der handelsüblichen Sorten von

a) Pasta Guaraná (von paullinia cupana), und zwar von drei industriell (Rio de Janeiro) bzw. von Eingeborenen (Matto Grosso) hergestellten Proben[104],

b) grünen Kaffeebohnen (semen coffeae von coffea arabica), Sorte „Rio V" der Ernte 1952 (Brasilien),

c) ungeschälten Kakaobohnen (von theobroma cacao), Sorte „Accra", gut fermentiert, Hauptanbau 1952 (Afrika),

d) „weiblichen" Kolanüssen (von cola acuminata),

e) Mate (Yerba-maté) in Schuppen (von ilex paraguayensis[105]),

f) schwarzem Tee (von thea sinensis), und zwar „Java-Tee" der Firma Julius Meinl A. G., Wien.

Methoden.

Bei den angewendeten Untersuchungsverfahren sind zu unterscheiden:

1. Aufbereitung des Materials und Herstellung geeigneter Extrakte,
2. Zerlegung der Extrakte nach Purinkomponenten,
3. Nachweis und Identifizierung der Purine,
4. Quantitative Bestimmung.

Zu 1: Aufbereitung des Materials und Herstellung geeigneter Extrakte.

Das lufttrockene Material wurde möglichst fein pulverisiert und in einer kleinen Probe die Feuchtigkeit als Trocknungsverlust bestimmt. Kakao und Kaffee mußten zunächst im Soxhlet mit Petroläther (50 bis 60°) entfettet werden; beim Kakao war nach Entfernung der Hauptmenge Kakaobutter gelindes Kochen mit der doppelten Gewichtsmenge 5 n HCl durch 15 Min., Trockendampfen auf dem Wasserbad im Vak. und neuerliche Petrolätherextraktion bis zur Erschöpfung nötig. Die so erhaltenen Anteile von Kakaobutter bzw. Kaffeeöl wurden zur Wiedergewinnung mitgelöster oder mitgerissener Purine 3mal unter kräftigem Umschütteln mit ihrem Volumen an 0,01 n HCl einige Min. gekocht. Die gesammelten wäßr. Schichten wurden mit wenig Petroläther entfettet und im Vak. abgedampft. Die verbliebenen Purine wogen weniger als 1% der späteren Extrakte.

Nun setzten wir die Purinbasen der Probe durch inniges Verreiben des Pulvers mit 20 Gew.-% konz. Ammoniak in Freiheit und extrahierten die Masse im Soxhlet mit feuchtem Chloroform, welches 3mal mit etwa $^1/_4$ Vol. Wasser geschüttelt und dann abdestilliert worden war. Wir wechselten das Lösungsmittel nach 1 bis 4 Stdn. und nach 1 bis 2 Tagen und erhielten so 3 Fraktionen. Nach Erschöpfung wurde der Rückstand vom Chloroform befreit und mit einem Alkohol-Chloroform-Gemisch (3 : 7 Vol.) unter Abtrennung von 2 bis 3 Fraktionen weiter extrahiert. Eine abschließende längere Extraktion mit 96%igem Alkohol erfaßte fallweise noch vorhandene Purinreste. Alle Fraktionen wurden abgedampft, im Vakuumexsikkator getrocknet und gewogen.

Wir erreichten auf diese Weise eine grobe Vortrennung der gesuchten Substanzen: in den Chloroformfraktionen fanden sich zuerst Coffein, dann Theophyllin bzw. Theobromin, während die Amino- und Oxypurine im allgemeinen erst in den späteren Fraktionen auftraten (vgl. Tabelle 3).

Da in einigen Fällen besonders die späteren Fraktionen (z. B. Guaraná IV und Tee V) stark mit gefärbten und fluoreszierenden Substanzen verunreinigt waren, welche den Nachweis der Purine auf dem Filtrierpapier störten, wurde eine Anreicherung versucht. Die Verwendung von Ionenaustauschersäulen (Amberlit IR 4 B) führte nicht zum Ziel, hingegen konnten die Oxy- und Aminopurine durch Fällung mit ammoniakal. Silbernitratlösung[106] genügend rein erhalten werden, um diese Substanzen qualitativ nachweisen und ihre Menge nach der Größenordnung abschätzen zu können. Die Abscheidung des überschüssigen Silbers durfte hierbei nicht mit Natriumsulfid (nach Anm. 106), sondern nur mit Schwefelwasserstoff analog der Vorschrift von *Kossel*[107] erfolgen.

Zu 2: Zerlegung der Extrakte nach Purinkomponenten.

Die Auftrennung jeder Fraktion wurde auf drei Arten versucht:

a) Durch Papierelektrophorese (PEP) auf Schleicher & Schüll-Papier

Nr. 2043 b glatt. Hierbei wurde die früher[108] beschriebene Apparatur verwendet; als Puffer sind folgende Lösungen geeignet:

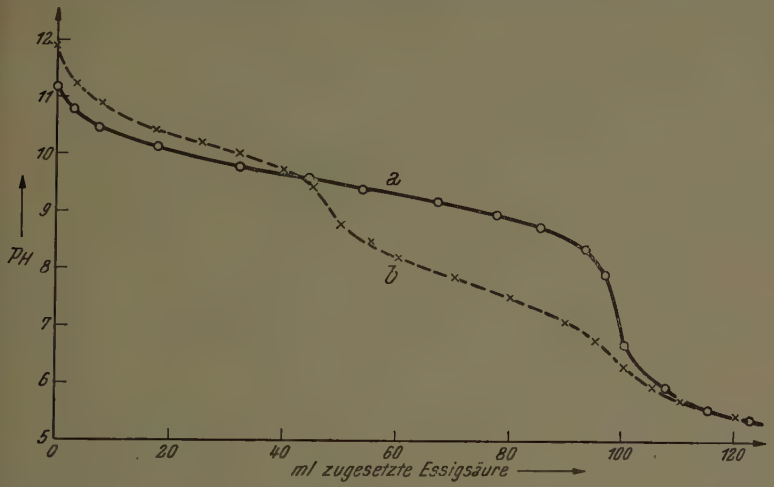


Abb. 1. Elektrometrische Titration von Ammoniak und Äthylendiamin mit Essigsäure:
a) 100 ml 1 n Ammoniak mit 1 n Essigsäure titriert.
b) 100 ml 1 n Äthylendiamin mit 1 n Essigsäure titriert.

Sauer (für Adenin und Guanin):
Eisessig : Pyridin : Wasser (10 : 1 : 89) = EP. 10, pH = 3,6.
Alkalisch (für Theobromin, Theophyllin, Hypoxanthin und Xanthin):
1 n Ammoniak : 1 n Essigsäure : Wasser (1,5 : 1 : 2 = AE. 1,5, pH = 9,2;
1 n Ammoniak : 1 n Essigsäure : Wasser (9 : 1 : 10) = AE. 9, pH = 10,3;
1 n Ammoniak : 1 n Essigsäure (20 : 1) = AE. 20, pH = 10,6;
1 n Äthylendiamin : 1 n Essigsäure (20 : 1) = enE. 20, pH = 11,1.

Die pH-Werte einiger alkalischer Puffergemische sind aus Abb. 1 (vgl. [109]) zu entnehmen, wobei die Basen entsprechend den Versuchsbedingungen nicht erst CO_2-frei gemacht wurden. Die Beweglichkeit und Auftrennungsschärfe (vgl. Abb. 2) der Purine waren in Ammoniak- und Äthylendiaminpuffern von gleichem pH gleich, doch wurde die Empfindlichkeit des Fluoreszenznachweises durch Äthylendiamin etwas beeinträchtigt. Coffein zeigte in den angegebenen Pufferlösungen nur die durch Elektro-

Abb. 2. Elektrophoretische Trennung von Coffein, Theobromin und Theophyllin bei pH 10,6. Photographiert wurde die violette Fluoreszenz der Purine im UV-Licht nach Chlorwasseroxydation.

osmose bzw. Pufferströmungen hervorgerufene Wanderung und wurde daher zur Nullpunktsmarkierung verwendet. Tabelle 1 gibt eine Zusammenstellung der scheinbaren Beweglichkeitswerte, welche in der Regel Schwankungen unter 10% aufweisen; beim Gemisch AE. 20 können infolge der Flüchtigkeit des Ammoniaks und der geringen Pufferkapazität dieser Lösung auch größere Abweichungen auftreten.

Tabelle 1. Durchschnittliche scheinbare Beweglichkeit von Purinen bei der Papierelektrophorese nach *Michl*[108]. Feldstärke 25 bis 40 [V/cm], u [cm² Volt^{-1} sec.$^{-1}$]. Vorzeichen bei Wanderung zur Kathode +, zur Anode —.

Purin	EP. 10 Eisessig: Pyridin: Wasser (10:1:89) pH = 3,6		AE. 1,5 1 n NH_4OH: 1 n AcOH: Wasser (1,5:1:2) pH = 9,2		AE. 9 1 n NH_4OH: 1 n AcOH: Wasser (9:1:10) pH = 10,3		AE. 20 1 n NH_4OH: 1 n AcOH (20:1) pH = 10,6	
	$10^5 \cdot u$	u/u_{Ade}	$10^5 \cdot u$	u/u_{Xan}	$10^5 \cdot u$	u/u_{Xan}	$10^5 \cdot u$	u/u_{Xan}
Adenin	+ 6,3	1	geringe Wanderung zur Anode				— 0,8	0,12
Guanin	+ 2,1	0,33	—	—	—	—	—	—
Xanthin	—	—	— 4,1	1	— 6,3	1	— 6,4	1
Hypoxanthin	0	0	— 0,7	0,17	— 5,2	0,83	— 5,3	0,83
Theophyllin .	0	0	— 1,6	0,39	— 5,5	0,87	— 7,3	1,14
Theobromin .	—	—	—	—	— 2,2	0,35	— 2,8	0,44
Coffein	0	0	0	0	0	0	0	0

Der Feuchtigkeitsgehalt der in die Pufferlösungen getauchten und anschließend zwischen mehrfachen Fließpapierlagen abgepreßten Papierstreifen schwankte zwischen 95 und 100% des Trockengewichtes. Die Substanzproben wurden in Pufferlösung aufgenommen und mittels eines Haarpinsels, für quantitative Zwecke mit Mikromeßpipetten (15 bis 40 μl) aufgetragen. Nach dem Versuch wurden die Streifen einige Min. bei 70 bis 100° im Trockenschrank getrocknet, bis der Geruch des Puffers völlig verschwunden war.

b) Durch aufsteigende Papierchromatographie (PCG) auf Papier S. & S. Nr. 2043 a rauh. Die folgenden herkömmlichen Gemische erwiesen sich als Verteilungsmittel zweckmäßig:

„HCOOH" = n-Butanol : Ameisensäure : Wasser (77 : 10 : 13)[80];

„NH_3" = n-Butanol : konz. Ammoniak : Wasser (82 : 5 : 13) (vgl. [80]);

„Phos" = 5% wäßr. Na_2HPO_4 : Isoamylalkohol (2 : 1)[84].

Die in der Literatur angegebenen R_f-Werte konnten — abgesehen von temperaturbedingten Schwankungen — im allgemeinen reproduziert werden, doch trat manchmal bei stark verunreinigten Fraktionen eine Verschiebung der R_f-Werte ein. Insbesondere störte bei Vorversuchen nicht entfetteter Kaffee; das Kaffeeöl verminderte den R_f-Wert des Coffeins beträchtlich. Durch Ausschneiden des auf einem Vergleichsstreifen lokalisierten Coffeinfleckes und Übertragung auf ein neues Chromatogramm[110] konnte der R_f-Wert des Coffeins richtig erhalten werden.

c) Durch Zirkularpapierchromatographie (ZCG) auf Papier Nr. 2043 a rauh[111]. Die Methode ist für einphasige Verteilungsmittel (HCOOH und

NH_3) geeignet und bildet eine nützliche Ergänzung der aufsteigenden Papierchromatographie besonders für Substanzen mit kleinen R_f-Werten.

Bei mengenmäßig starkem Überwiegen eines Purins kam es vor, daß ein einfaches Papierchromatogramm die Erfassung der Spuren nicht mehr erlaubte. So enthielt bei Vorversuchen eine Fraktion aus Guaranápaste

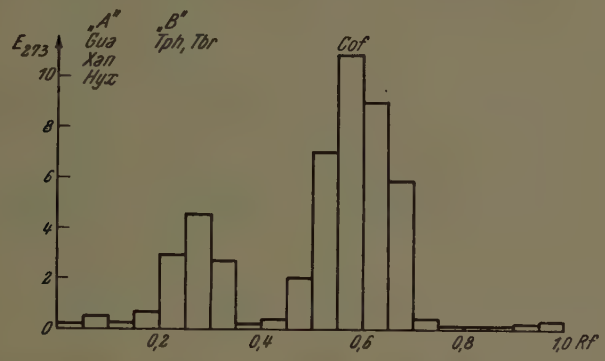


Abb. 3. Spektrophotogramm von 6 mg einer Guaraná-Extraktfraktion, auf 6 cm breitem Streifen aufgetragen und nach Papierchromatographie mit Butanol-Ammoniak-Gemisch und darauffolgender systematischer Eluierung bei 273 mμ gemessen. Mengenverhältnis von Guanin: Theophyllin: Coffein etwa 1: 100: 400.

nur rund den hundertsten Teil an Guanin, Xanthin, Hypoxanthin und Theobromin gegenüber Theophyllin bzw. den vierhundertsten Teil gegenüber Coffein. Das Spektrophotogramm eines mit „NH_3" entwickelten Papierchromatogramms dieser Fraktion (Abb. 3) zeigte neben dem Coffein-

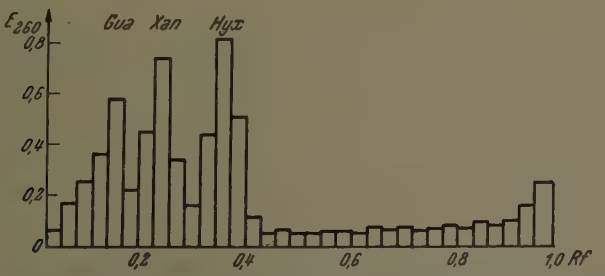


Abb. 4. Spektrophotogramm der Fraktion „A" (vgl. Abb. 3, R_f 0,03—0,12), welche aus einem 24 cm breiten Papierchromatogramm von 25 mg Extrakt eluiert worden war, nach Chromatographie mit Butanol-Ameisensäure-Gemisch und systematischer Eluierung bei 260 mμ gemessen.

maximum lediglich zwei Maxima bei $R_f = 0{,}08$ und 0,28. Da für diese R_f-Werte die genannten fünf Purine in Frage kamen, mußte entschieden werden, ob die Maxima nur von je einem oder von mehreren Purinen verursacht waren. Hierzu wurde reichlich (etwa 25 mg) Substanz eingewogen, auf einer 24 cm langen Startlinie auf das Papier aufgetragen und wie ursprünglich im „NH_3"-Gemisch chromatographiert. Nach Ausschneiden und Eluierung der fraglichen Zonen ergab die Papierchromatographie der eingedampften Eluate im „HCOOH"-Gemisch auf Grund der Spektrophotogramme (Abb. 4

und 5), daß alle genannten Komponenten nebeneinander vorhanden waren. Während sich Guanin, Xanthin und Hypoxanthin, die in annähernd gleicher Menge vorhanden waren, durch deutlich getrennte Maxima unterschieden, war das Theobromin wegen seiner geringen Menge nur als Unstetigkeit im Anstieg der vom Theophyllin verursachten Extinktion zu erkennen. Der qualitative Nachweis des Theobromins erfolgte außerdem durch ein „HCOOH"-Chromatogramm der nächsten Extraktionsfraktion, in der dieses Purin relativ angereichert war.

Zu 3: Nachweis und Identifizierung der Purine.

Zum qualitativen Nachweis der Purine auf dem Papier wurde von fünf Methoden Gebrauch gemacht:

a) Fluoreszenz im nahen UV nach Oxydation mit Chlorwasser und Begasung mit Ammoniak (Cl)[97]. Hierbei waren alle gesuchten Purine, zum Teil mit verschiedener Fluoreszenzfarbe, zu erkennen (vgl. [112]).

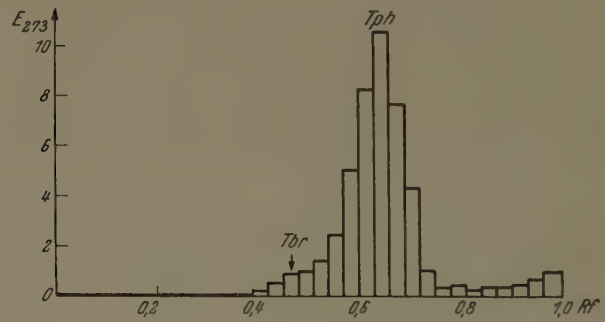


Abb. 5. Spektrophotogramm der Fraktion „B" (vgl. Abb. 3, R_f 0,14—0,35), welche aus dem gleichen Chromatogramm wie Fraktion „A" gewonnen worden war, nach Papierchromatographie mit Butanol-Ameisensäure-Gemisch und systematischer Eluierung bei 273 mμ gemessen.

b) Gelbfärbung nach Besprühen mit 0,4%iger alkohol. Chloranilsäurelösung (ClAS). Von den untersuchten Substanzen gab nur Coffein eine positive Reaktion, welche als Modifikation der von *Barreto*[113] angegebenen Tüpfelreaktion zu betrachten ist. Chloranilsäure wurde nach *Graebe*[114] aus Chloranil dargestellt. Das Reagens ist in frisch bereiteter Lösung zu verwenden, das zu besprühende Papier muß frei von Säuren oder Basen sein.

c) Blaufärbung durch Eintauchen des Streifens in eine 0,2%ige Bromphenolblau-Lösung in sublimatgesättigtem 96%igem Alkohol (HgB) (20 mg Bromphenolblau und 3,25 g $HgCl_2$ auf 10 ml 96%igen Alkohol). Der Farbstoffüberschuß wurde mit fließendem Wasser ausgewaschen. Es wurden hierbei nur die Purine Adenin und Guanin angefärbt[97], sie unterschieden sich von der grünblauen Färbung wasserlöslicher Aminosäuren und Peptide[115] durch hellblauen Farbton. Die Farbreaktion ist auch auf Alkaloide anwendbar, z. B. gaben die im Tabak vorkommenden Alkaloide Nicotin, Nornicotin und Anabasin ein deutliches Schwarzblau.

d) Rotfärbung mit 0,2%iger Eosin-Sublimat-Lösung (HgE) (20 mg Eosin und 3,25 g $HgCl_2$ auf 10 ml 96%igen Alkohol). Das Auswaschen wurde erst gründlich in 96%igem Alkohol, dann im Fließwasser vorgenommen. So konnten Adenin, Guanin, Hypoxanthin, Xanthin und Harnsäure sichtbar

gemacht werden[97]. Die Reaktion war noch empfindlicher als die mit Bromphenolblau und ebenfalls auf Nicotin, Nornicotin und Anabasin anwendbar.

e) Systematisches Zerschneiden der Papierchromatogramme oder Papierelektropherogramme, Eluierung der Streifchen und Ausmessen der Eluate mit dem *Beckman*-Spektrophotometer (SPM)[78].

Zu 4: Quantitative Bestimmung.

Drei der genannten Nachweismethoden waren auch für die quantitative Bestimmung geeignet: Die Farbreaktionen mit Bromphenolblau und mit Eosin gaben bei genormten Anfärbe- und Auswaschbedingungen nach Ausschneiden der Farbzonen und Eluierung mit warmer 0,02 m Sodalösung brauchbare quantitative Werte. Die Eluate wurden spektrophotometriert (HgB bei 597 mμ, HgE bei 519 mμ). Die Methode 3 e (SPM) lieferte durch Vergleich mit Standardlösungen bei konstanten Arbeitsbedingungen gute Resultate (Eluierung mit 5 ml 0,01 n HCl in drei gleichen Portionen, je 30 Min. auf dem Wasserbad digeriert). Die Oxy- und Aminopurine wurden hierzu einheitlich bei 260 mμ, die Methylxanthine einheitlich bei 273 mμ gemessen.

Tabelle 2. Erfassungsgrenzen der Nachweis- und Bestimmungsmethoden für Purine.
(Mengen in 10^{-6} g.)

Purin	Chlorwasser u. NH_3 (Cl)	0,4% Chloranilsäure (ClAS)	0,2% Bromphenolblaugesättigte Sublimatlösung (HgB)		0,2% Eosingesättigte Sublimatlösung (HgE)		Beckman Spektrophotometer (SPM)
	qual.	qual.	qual.	quant.	qual.	quant.	quant.
Coffein	0,5 violett	50 gelb	—	—	—	—	2
Theobromin	0,5 violett	—	—	—	—	—	2
Theophyllin	0,5 violett	—	—	—	—	—	2
Harnsäure	1 bläulich	—	—	—	0,2	10	2
Xanthin	1 bläulich	—	—	—	0,2	10	2
Hypoxanthin	1 bläulich	—	—	—	0,2	10	2
Adenin	1 grünlich	—	1	5	0,2	10	2
Guanin	1 grünlich	—	1	5	0,2	10	2

Zusammenfassend gesagt, wendeten wir also bei unseren Untersuchungen eine fraktionierte Extraktionsmethode an und fügten den bekannten chromatographischen und elektrophoretischen Trennverfahren die Papier-

Tabelle 3. Purinvorkommen in coffeinhaltigen Drogen.

Droge	Purin	feuchtes Chlf.			30% A.-Chlf.		96% Alk.	Summe %	qual. Nachweis	quant. Bestimmung
		I	II	III	IV	V	VI			
Guaraná	Cof	++++	+++	+				4,49	HCOOH/Cl NH_3/Cl AE. 20/Cl ClAS	NH_3/SPM AE. 20/SPM
	Tbr	+	+					≈ 0,003	HCOOH/Cl HCOOH/SPM NH_3/SPM	HCOOH/SPM
	Tph	+++	++	+				0,28	HCOOH/Cl NH_3/Cl	NH_3/SPM
	Ade		×	+	+	×	+	0,0045	NH_3/Cl EP. 10/HgB	EP. 10/HgB
	Gua		×	+	+			≈ 0,005	HCOOH/Cl HCOOH/SPM NH_3/Cl	HCOOH/SPM
	Xan		×	+	+			≈ 0,006	NH_3/Cl NH_3/SPM Phos/HgE	HCOOH/SPM
	Hyx		+	+	+			≈ 0,008	HCOOH/Cl Phos/Cl NH_3/Cl	HCOOH/SPM
Kaffee	Cof	+++	+++	×				0,896	HCOOH/Cl NH_3/Cl ClAS	AE. 20/SPM HCOOH/SPM

	Ade				+	×	0,0022	Phos/HgB EP. 10/HgB	EP. 10/HgB
Kaffee	Gua				×		< 0,002	HCOOH/Cl EP. 10/HgB	EP. 10/HgB
	Xan					×	< 0,001	HCOOH/HgE AE. 10/HgE	AE. 20/HgE
	Hyx				×		< 0,001	Phos/HgE	AE. 20/HgE
	Cof	++	×				0,11	HCOOH/Cl AE. 20/Cl ClAS	HCOOH/SPM
Kakao	Tbr	+++	+++	++	×		1,43	HCOOH/Cl NH_3/Cl AE. 20/Cl	HCOOH/SPM AE. 20/SPM
	Ade				++		0,055	HCOOH/HgB EP. 10/HgB	EP. 10/HgB
	Gua				×		< 0,01	HCOOH/Cl Phos/HgB	Phos/HgB
	Cof	++++	+				1,93	HCOOH/Cl NH_3/Cl AE. 20/Cl ClAS	HCOOH/SPM AE. 20/SPM
Kola	Tbr	+++	+				0,170	HCOOH/Cl AE. 20/Cl	AE. 20/SPM
	Ade			+	+		0,0033	HCOOH/Cl EP. 10/HgB	EP. 10/HgB
	Hyx		×				< 0,001	HCOOH/Cl	—

(Fortsetzung der Tabelle 3.)

Droge	Purin	feuchtes Chlf. I	feuchtes Chlf. II	feuchtes Chlf. III	30% A.-Chlf. IV	30% A.-Chlf. V	96% Alk. VI	Summe %	qual. Nachweis	quant. Bestimmung
Mate	Cof	+++	+++	++				1,43	HCOOH/Cl NH_3/Cl AE. 20/Cl ClAS	AE. 20/SPM
	Tbr	++	+++	++				0,31	HCOOH/Cl AE. 20/Cl	AE. 20/SPM
	Tph	+	++					0,074	HCOOH/Cl AE. 20/Cl	AE. 20/SPM
	Ade				+			0,0042	EP. 10/HgB	EP. 10/HgB
Tee	Cof	++++	++	×				2,50	HCOOH/Cl NH_3/Cl AE. 20/Cl ClAS	AE. 20/SPM
	Tbr	++	++	+				0,17	HCOOH/Cl NH_3/Cl AE. 20/Cl	AE. 20/SPM
	Tph		+	++				0,013	NH_3/Cl AE. 20/Cl	AE. 20/SPM
	Ade				++	+		0,014	Phos/HgE Phos/HgB	EP. 10/HgB
	Gua				×			< 0,001	Phos/HgB NH_3/Cl	Phos/HgB
	Xan				×	×		< 0,001	HCOOH/Cl NH_3/Cl	Phos/HgE

Abkürzungen und Zeichen zu Tabelle 3:

Purine: Cof = Coffein, Xan = Xanthin,
Tbr = Theobromin, Hyx = Hypoxanthin,
Tph = Theophyllin, Ade = Adenin,
Hsr = Harnsäure, Gua = Guanin.

Trennungsmethoden: PEP = Papierelektrophorese, und zwar:

AE. 20 = 1 n Ammoniak : 1 n Essigsäure (20 : 1),
EP. 10 = Eisessig : Pyridin : Wasser (10 : 1 : 89).
PCG = Papierchromatographie, und zwar:
HCOOH = n-Butanol : Ameisensäure : Wasser (77 : 10 : 13),
NH_3 = n-Butanol : konz. Ammoniak : Wasser (82 : 5 : 13),
Phos = 5% wäßr. Na_2HPO_4-Lösung : Isoamylalkohol (2 : 1).

Nachweismethoden:

Cl = UV-Fluoreszenz nach Chlorwasseroxydation,
ClAS = Anfärbung mit Chloranilsäurelösung (Spray),
HgB = „ „ Bromphenolblau-Sublimat-Lösung (Bad),
HgE = „ „ Eosin-Sublimat-Lösung (Bad),
SPM = Spektrophotometrie nach Eluierung.

Mengenangabe:

++++ = über 1%, + = 0,001 bis 0,01%,
+++ = 0,1 bis 1%, × = Spur.
++ = 0,01 bis 0,1%,

elektrophorese von Theophyllin, Theobromin, Xanthin und Hypoxanthin bei pH 9 bis 11 hinzu. Zum Nachweis des Coffeins auf dem Papier wurde die Chloranilsäurefärbung neu eingeführt; die Farbreaktionen einzelner Purine mit Bromphenolblau bzw. Eosin wurden auch für die quantitative Bestimmung ausgewertet.

Ergebnisse und Diskussionen.

Die Anwendung der beschriebenen Methodik auf die sechs untersuchten Drogen ergab folgendes Bild:

Danach kam in den Guaranáproben neben Coffein nur Theophyllin in nennenswerter Menge vor, während Hypoxanthin, Xanthin, Guanin, Adenin und Theobromin nur als Spuren mit einem Gehalt unter 10^{-2}% nachgewiesen werden konnten. Dieses Ergebnis stimmt bezüglich des Coffeingehaltes mit den Arbeiten von *Bertrand-Carneiro*[116] gut überein, da in der von Eingeborenen hergestellten Paste 4,65, in der industriellen nur 4,33% Coffein gefunden wurden (vgl.[117]). Die Feststellung dieser Autoren, daß in der Guaraná nur Coffein als wirksame Substanz enthalten sei, trifft auf die hier untersuchten Proben nicht mehr zu, da die angewendeten Nachweismethoden empfindlicher sind. Festzuhalten ist ferner, daß *Bertrand-Carneiro* bei der systematischen Untersuchung der

Guaraná[118] in verschiedenen Organen dieser Pflanze viel Theobromin jedoch kein Theophyllin fanden, während in den hier untersuchten Proben von Guaranápaste das Verhältnis Theophyllin : Theobromin rund 100 : betrug. *Kleins* Handbuch der Pflanzenanalyse[102] gibt für Guarana ebenfalls nur Coffein und Theobromin an, während wir in dieser Droge auch alle anderen hier untersuchten Purine nachweisen konnten.

Ein ähnlicher Widerspruch zu bisherigen Analysenergebnissen tra bei der Untersuchung von „Java-Tee" auf. Hier wurde im Vergleich zu Theophyllin etwa die zehnfache Menge Theobromin gefunden, während in der Literatur unseres Wissens bisher Theophyllin[101] als reichliche vorhandenes Nebenpurin angegeben wurde. Die Anwesenheit von Xanthin, Hypoxanthin, Adenin und Guanin fanden wir bestätigt.

Bei den übrigen Drogen traten keine Widersprüche zu früheren Analysen auf, die jedoch meist nur den Coffeingehalt angeben. De qualitative Nachweis einiger Purine (Theobromin, Theophyllin und Adenin im Mate, Adenin und Hypoxanthin in der Kolanuß sowie Adenin und Guanin in Kakaobohnen) und die Bestimmung oder zumindest Abschätzung der Oxy- und Aminopurine wurde unseres Wissens hier erstmalig angegeben.

Dieser Arbeit kam eine Zuwendung zugute, welche die Rockefeller Foundation dem Vorstand des II. Chemischen Laboratoriums der Universität Wien, Herrn Prof. Dr. *F. Wessely*, zur Unterstützung der unter seiner Leitung ausgeführten Arbeiten gewährt hat. Wir danken hierfür sowie für die Hilfe, die einer von uns *(H. M.)* von der Österreichischen Akademie der Wissenschaften aus den Mitteln der *Seegen*-Stiftung erhalten hat.

Literatur.

[1] *K. Lendrich* und *E. Nottbohm*, Z. Unters. Nahrungs- u. Genußmittel 17 241 (1909).

[2] *G. Fendler* und *W. Stüber*, Z. Unters. Nahrungs- u. Genußmittel 28 9 (1914).

[3] *F. B. Power* und *V. K. Chesnut*, J. Amer. Chem. Soc. **41**, 1298 (1919

[4] *W. Uglow* und *A. Schapiro*, Z. Unters. Lebensmittel **55**, 149 (1928).

[5] *J. Grossfeld* und *G. Steinhoff*, Z. Unters. Lebensmittel **61**, 38 (1931).

[6] *F. F. Cortes*, Actas y trabajos tercer congreso sudamericano de química 214 (1937); Chem. Abstr. **34**, 7471[9] (1940).

[7] *G. Wallrabe*, Apothek.-Ztg. **46**, 341 (1931).

[8] *C. Monthulé*, Z. Unters. Lebensmittel **26**, 676 (1913).

[9] *R. V. Wadsworth*, Analyst **46**, 32 (1921).

[10] *J. Pritzker* und *R. Jungkunz*, Mitt. Lebensm. Hyg. **34**, 185 (1943).

[11] *W. O. Emery* und *G. C. Spencer*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. 1 605 (1918).

[12] *H. Boie*, Pharmaz. Ztg. **75**, 968 (1930).

[13] *F. Reimers*, Dansk Tidsskr. Farmac. **9**, 11 (1935); Chem. Zbl. **1935 I**, 1898.

[14] *J. Hasselmann* und *A. Lopes da Cruz*, Rev. alimentar. (Rio de Janeiro) **4**, Nr. 31, 7 (1940); Chem. Abstr. **39**, 2160[3] (1945).

[15] *R. G. Moores* und *H. A. Campbell*, Analyt. Chemistry **20**, 40 (1948).

[16] *N. H. Ishler*, *T. P. Finucane* und *E. Borker*, Analyt. Chemistry **20**, 1162 (1948).

[17] *G. v. Mikó*, Magyar Gyógyszerésztudomanyi Társaság Ertesitöje **6**, 30 (1930); Chem. Zbl. **1930 I**, 2286.

[18] *F. Martin* und *H. Clergue*, Ann. chim. analyt. chim. appl. (4), **24**, 202 (1942); Chem. Zbl. **1943 I**, 2219.

[19] *N. E. Bührer*, Arquiv. biol. e tecnol., Inst. biol. e pesquisas tecnol. Curitiba, Brasilien **1**, 177 (1946); Chem. Abstr. **42**, 3290 a (1948).

[20] *L. V. Fungairiño* und *P. García-Puertas*, Anales bromatol. (Madrid) **1**, 219 (1949); Chem. Abstr. **44**, 7461 f (1950).

[21] *M. Bertrand*, Ann. pharmac. franç. **8**, 637 (1950); Z. analyt. Chem. **133**, 384 (1951).

[22] *R. M. Serra*, Anales Univ. Santo Domingo **9**, 103 (1945); Chem. Abstr. **41**, 1811 f (1947).

[23] *J. D. Kidd*, *H. R. Nanji* und *F. W. Edwards*, Analyst **66**, 240 (1941).

[24] *K. W. Gerritsma* und *J. Koers*, Analyst **78**, 201 (1953).

[25] *V. Lucas*, Rev. farm. e odontol. (Nicteroy) **14**, 299 (1947); Chem. Abstr. **42**, 6055 f (1948).

[26] *N. Silvestri*, Boll. chim. farm. **87**, 236 (1948); Chem. Abstr. **43**, 1689 f (1949).

[27] *G. Scotti*, Boll. chim. farm. **77**, 403, 444 (1938); Chem. Zbl. **1939 I**, 839.

[28] *F. J. T. Harris*, J. Sci. Food Agr. **4**, 205 (1953); Chem. Abstr. **47**, 6066 c (1953).

[29] *A. Oehrli*, Pharmaceut. Acta Helv. **2**, 155 (1927).

[30] *G. Bertrand* und *T. Devuyst*, Bull. sci. pharmacol. **17**, 249 (1910); Chem. Zbl. **1910 II**, 332.

[31] *J. Delga*, Ann. pharmac. franç. **1**, 72 (1943); Chem. Zbl. **1943 II**, 1761.

[32] *O. de Almeida Costa* und *A. Allemand*, Rev. brasil. farm. **30**, 227 (1948); Chem. Abstr. **43**, 5904 e (1949).

[33] *M. v. Breukeleveen*, Chem. Weekbl. **24**, 206 (1927); Chem. Zbl. **1927 II**, 302.

[34] *S. Gobert*, Ann. Falsifications **24**, 288 (1931); Chem. Zbl. **1931 II**, 1778.

[35] *J. Axelrod* und *J. Reichenthal*, J. Pharmacol. Exp. Therap. **107**, 519 (1953).

[36] *A. E. Parkes* und *H. A. Parkes*, Analyst **62**, 791 (1937).

[37] *N. S. Gorjainowa*, Chem.-pharmaz. Ind. (russ.) **1932**, 227; Chem. Zbl. **1933 I**, 3338.

[38] *Y. Sakato*, J. Agric. Chem. Soc. Japan, Bull. **16**, 739 (1940); Chem. Zbl. **1943 II**, 1153.

[39] *J. A. McDonald*, Annu. Rep. Cacao Res. **6**, 43 (1937); Chem. Zbl. **1937 II**, 3253.

[40] *J. Kay* und *P. J. C. Haywood*, Analyst **71**, 162 (1946).

[41] *A. Bonn* und *Ch. Desgrez*, Ann. Falsifications **24**, 546 (1931); Chem. Zbl. **1932 I**, 1172.

[42] *T. Ugarte*, Chemia **7**, 490 (1930); Chem. Zbl. **1931 II**, 2234.

[43] *M. Péronnet*, C. r. acad. sci., Paris **229**, 886 (1949).

[44] *A. Taylor* und *D. J. Taylor*, Analyst **74**, 463 (1949).

[45] *A. Jermstad* und *O. Østby*, Dansk. Tidsskr. Farmac. **7**, 117 (1933); Chem. Zbl. **1933 II**, 1402.

[46] *P. Wade* und *J. Hannen*, J. Sci. Food Agr. **1**, 177 (1950); Chem. Abstr. **45**, 308 d (1951).

[47] *J. H. Wolff* und *F. Bister*, Z. analyt. Chem. **137**, 324 (1953).

[48] *P. Hagedorn*, Dtsch. Apothek.-Ztg. **92**, 430 (1952).

[49] *M. Carlassare*, Boll. chim. farm. **90**, 4 (1951); Chem. Abstr. **45**, 4606 e (1951).

[50] *J. v. Mikó*, Pharmaz. Mh. **14**, 279 (1933).

[51] *P. W. Schmitt*, J. Amer. Pharmaceut. Assoc. **19**, 821 (1930).

[52] *A. N. Stevens* und *D. T. Wilson*, J. Amer. Pharmaceut. Assoc. **26**, 314 (1937).

[53] *F. Vieböck*, Pharmaz. Presse, Wien **37**, 17 (1932).

[54] *F. Reimers* und *K. R. Gottlieb*, Dansk Tidsskr. Farmac. **17**, 105 (1943); Chem. Zbl. **1943 II**, 1483.

[55] *A. M. Shkodin*, *N. A. Izmailov* und *N. P. Dzyuba*, Zhur. Obshchei Khim. **20**, 1999 (1950); Chem. Abstr. **45**, 3225 a (1951).

[56] *K. Dimroth* und *H. G. Meyer-Brunot*, Biochem. Z. **323**, 338 (1952).

[57] *A. Poulos*, Analyt. Chemistry **24**, 1858 (1952).

[58] *E. Herndlhofer*, Mikrochem. **12** (N. F. 6), 227 (1932).

[59] *H. G. Koritz* und *F. Skoog*, Arch. Biochem. Biophysics **38**, 15 (1952).

[60] *R. S. Fisher*, *E. J. Algeri* und *J. T. Walker*, J. Biol. Chem. **179**, 71 (1949).

[61] *H. R. Hernandez* und *A. M. Mattocks*, Bull. Natl. Formulary Comm. **19**, 1 (1951); Chem. Abstr. **45**, 5363 c (1951).

[62] *H. S. Loring*, *J. L. Fairley*, *H. W. Bortner* und *H. L. Seagran*, J. Biol. Chem. **197**, 809 (1952).

[63] *W. E. Kunze*, Z. analyt. Chem. **33**, 1 (1894).

[64] *A. Bömer*, *A. Juckenack* und *J. Tillmans*, Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. VI, S. 123. Berlin: J. Springer. 1934. — *A. Kossel*, Z. physiol. Chem. **13**, 293 (1889).

[65] *H. Hadorn* und *R. Jungkunz*, Mitt. Lebensm. Hyg. **40**, 190 (1949).

[66] *P. Edman*, *E. Hammarsten*, *B. Löw* und *P. Reichard*, J. Biol. Chem. **178**, 395 (1949).

[67] *M. M. Daly* und *A. E. Mirsky*, J. Biol. Chem. **179**, 981 (1949).

[68] *J. F. Tinker* und *G. B. Brown*, J. Biol. Chem. **173**, 585 (1948).

[69] *S. C. Smith* und *S. H. Wender*, J. Amer. Chem. Soc. **70**, 3719 (1948).

[70] *W. E. Cohn*, Science **109**, 377 (1949).

[71] *W. E. Cohn*, J. Amer. Chem. Soc. **72**, 1471 (1950).

[72] *E. G. Arraras*, Rev. fac. cienc. quim. Univ. nacl. La Plata **24**, 53 (1952); Chem. Abstr. **47**, 1865 h (1953).

[73] *J. S. Wall*, Analyt. Chemistry **25**, 950 (1953).

[74] *R. J. Block*, *R. Le Strange* und *G. Zweig*, Paper Chromatography. New York: Academic Press Inc. 1952.

[75] *F. Cramer*, Papierchromatographie. Weinheim: Verlag Chemie. 1952.

[76] *E.* und *M. Lederer*, Chromatography. Amsterdam, Houston, London, New York: Elsevier Publishing Comp. 1953.

[77] *E. Vischer* und *E. Chargaff*, J. Biol. Chem. **168**, 781 (1947); **176**, 703 (1948).

[78] *R. D. Hotchkiss*, J. Biol. Chem. **175**, 315 (1948).

[79] *R. Markham* und *J. D. Smith*, Nature **163**, 250 (1949).

[80] *R. Markham* und *J. D. Smith*, Biochemic. J. **45**, 294 (1949).

[81] *J. D. Smith* und *R. Markham*, Biochemic. J. **46**, 509 (1950).
[82] *R. Markham* und *J. D. Smith*, Biochemic. J. **46**, 513 (1950).
[83] *R. Markham* und *J. D. Smith*, Biochemic. J. **49**, 401 (1951).
[84] *C. E. Carter*, J. Amer. Chem. Soc. **72**, 1466 (1950).
[85] *N. M. Löfgren*, Acta Chem. Scand. **6**, 1030 (1952).
[85] *R. Munier* und *M. Macheboeuf*, Bull. soc. chim. biol. **32**, 904 (1950).
[87] *R. Munier*, Bull. soc. chim. France V, **19**, 857 (1952).
[88] *L. Kogan*, *F. J. DiCarlo* und *W. E. Maynard*, Analyt. Chemistry **25**, 1118 (1953).
[89] *Th. Wieland* und *L. Bauer*, Angew. Chem. **63**, 511 (1951).
[90] *K. Dimroth*, *L. Jaenicke* und *I. Vollbrechtshausen*, Z. physiol. Chem. **289**, 71 (1952).
[91] *A. R. Ghosh* und *D. P. Burma*, Science and Culture (India) **19**, 103 (1953).
[92] *D. P. Burma*, Science **118**, 694 (1953).
[93] *W. C. Werkheiser* und *R. J. Winzler*, J. Biol. Chem. **204**, 971 (1953).
[94] *E. Scholz* und *P. Hagedorn*, Dtsch. Apothek.-Ztg. **93**, 81 (1953).
[95] *E. R. Holiday* und *E. A. Johnson*, Nature **163**, 216 (1949).
[96] *J. E. Edström*, Biochim. Biophys. Acta **9**, 528 (1952).
[97] *H. Michl*, Naturwiss. **40**, 390 (1953).
[98] *R. M. Reguera* und *I. Asimov*, J. Amer. Chem. Soc. **72**, 5781 (1950).
[99] *R. Munier* und *M. Macheboeuf*, Bull. soc. chim. biol. **31**, 1144 (1949).
[100] *Y. Hashimoto* und *I. Mori*, Nature **170**, 1024 (1952).
[101] *A. Bömer*, *A. Juckenack* und *J. Tillmans*, Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. VI, S. 114. Berlin: J. Springer. 1934.
[102] *G. Klein*, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. IV/1, S. 406—409. Wien: J. Springer. 1933.
[103] *T. B. Johnson*, Science **85**, 431 (1937).
[104] Für die Überlassung der Guaranáproben sind wir P. *L. Hainberger*, S. J., Brasilien, zu großem Dank verpflichtet.
[105] Schreibweise gemäß Handbuch der Lebensmittelchemie (siehe Anm. 64), S. 160.
[106] *Hoppe-Seyler/Thierfelder*, Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse für Ärzte und Studierende, 9. Aufl., S. 714. Berlin: J. Springer. 1924. — *M. Krüger* und *J. Schmid*, Z. physiol. Chem. **45**, 1 (1905).
[107] *Hoppe-Seyler/Thierfelder*, Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse für Ärzte und Studierende, 9. Aufl., S. 875. Berlin: J. Springer. 1924. — *A. Kossel*, Z. physiol. Chem. **6**, 426; **7**, 17 (1882).
[108] *H. Michl*, Mh. Chem. **83**, 737 (1952).
[109] *T. M. Lowry* und *W. V. Lloyd*, J. Chem. Soc. London **1932**, 1633.
[110] *K. Schlögl* und *A. Siegel*, Z. physiol. Chem. **292**, 263 (1953).
[111] *G. Zimmermann* und *K. Nehring*, Angew. Chem. **63**, 556 (1951).
[112] *G. Denigès*, Bull. trav. soc. pharmac. **72**, 345 (1934); Chem. Zbl. **1935 I**, 3162.
[113] *A. Barreto*, Rev. quím. ind. **13**, Nr. 151, 16 (1944); Chem. Abstr. **39**, 3123[8] (1945).
[114] *C. Graebe*, Ann. Chem. **263**, 24 (1891).
[115] *I. I. Geschwind* und *C. H. Li*, J. Amer. Chem. Soc. **74**, 834 (1952).
[116] *G. Bertrand* und *P. de B. Carneiro*, C. r. acad. sci., Paris **193**, 276 (1931).
[117] *F. Schmidt*, O Guaraná. Rio de Janeiro. 1941.
[118] *G. Bertrand* und *P. de B. Carneiro*, C. r. acad. sci., Paris **194**, 26 (1932).

Zur papierchromatographischen Trennung gesättigter Fettsäuren*.

Von

A. Holasek und K. Winsauer.

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut und *Pregl*-Laboratorium der Universität Graz.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 29. März 1954.)

Nach einer Zusammenfassung der über dieses Thema bisher erschienenen Arbeiten wird eine Methode zur Trennung der gesättigten Fettsäuren von C_4 bis C_{18} beschrieben. Mit einem Gemisch von Tetrachlorkohlenstoff-Methanol-konz. Ammoniak lassen sich diese Säuren auf einem mit 0,5%iger Lösung von Aluminiumalaun imprägnierten Papier entwickeln. Nach dem Besprühen mit einer Rhodamin B-Lösung werden die Fettsäureflecken im ultravioletten Licht sichtbar.

Im Rahmen von Studien über den Fettstoffwechsel ergab sich die Notwendigkeit, einfache Methoden zur Identifizierung der Fettsäuren aus einem nur in geringer Menge zur Verfügung stehenden Material zu entwickeln. Es war naheliegend, die auf anderen Gebieten der analytischen Chemie sehr erfolgreiche Papierchromatographie anzuwenden. Bei der Durchsicht der an sich nicht sehr umfangreichen Literatur über papierchromatographische Fettanalyse wurde keine Methode gefunden, die die gestellten Aufgaben voll lösen würde.

Die Untersuchungsmethoden auf diesem Gebiete kann man in drei Gruppen teilen, und zwar: 1. Versuche zur papierchromatographischen Trennung ohne Vorbehandlung der Fettsäuren oder des Papiers, 2. Trennung mit Hilfe eines imprägnierten Papiers, 3. Trennung nach Überführung der Fettsäuren in ihre Hydroxamate.

Zu 1. Niedere Fettsäuren bis etwa C_8 lassen sich mit einem Entwicklungsgemisch trennen, bestehend aus ammoniakalischen Wasser-Alkohol

---

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *Ludwig Ebert* zum 60. Geburtstag gewidmet.

Gemischen[1–4]. Bei Betrachtung der von den Autoren angegebenen R_f-Werten[3] sieht man, daß der Abstand zwischen den einzelnen Säuren mit zunehmender Kettenlänge immer geringer wird. Fettsäuren über C_8 kann man auf diese Art überhaupt nicht mehr trennen[4]. Da im biologischen Geschehen die höheren Fettsäuren von größerer Bedeutung sind als die niederen, war diese Methode für unsere Arbeiten ungeeignet.

Relativ leicht lassen sich zwei höhere Fettsäuren voneinander trennen, wenn man die geeignete Alkohol-Wasser-Mischung zur Entwicklung verwendet[5]. Allerdings muß man für jedes zu trennende Fettsäurepaar ein ganz bestimmtes Alkohol-Wasser-Gemisch verwenden. Das bedeutet, daß die Trennung mehrerer Fettsäuren auf einem Chromatogramm nicht durchführbar ist.

Zu 2. Zur Imprägnierung des Papiers wurden verwendet Latex[6], Olivenöl[7], Paraffin[8] oder Silikon[9]. Die Entwicklung erfolgte mit Alkoholen. Eine Trennung der langkettigen Fettsäuren soll auch nach Erzeugung des Octadecyl-oxymethyläthers der Cellulose am Papier gelungen sein[10]. Diese Methoden wurden nicht überprüft, da einerseits die Erzeugung gleichmäßig imprägnierter Papiere und anderseits die Sichtbarmachung kleiner Mengen von Fettsäuren nach Angabe der Autoren nicht immer gelingt[6, 7].

Zu 3. Nach der Überführung in ihre Hydroxamate soll es möglich sein, die Fettsäuren von C_2 bis C_{22} papierchromatographisch zu identifizieren[11, 12]. Die von den Autoren angegebenen R_f-Werte zeigen so geringe Differenzen, daß von einer Trennung nicht die Rede sein kann. So liegen die R_f-Werte der Fettsäuren mit gerader C-Anzahl von C_6 bis C_{22} zwischen 0,93 und 0,98*.

---

[1] *F. Brown* und *L. P. Hall*, Nature **166**, 66 (1950); ref. Chem. Abstr. **44**, 9868 b (1950).
[2] *E. R. Hiscox* und *N. J. Beridge*, Nature **166**, 522 (1950).
[3] *E. P. Kennedy* und *H. A. Barker*, Analyt. Chemistry **23**, 1033 (1951).
[4] *R. L. Leid* und *M. Lederer*, Biochemic. J. **50**, 60 (1951).
[5] *H. P. Kaufmann* und *J. Budwig*, Fette u. Seifen **53**, 390 (1951).
[6] *J. Bolding*, Exper. **4**, 270 (1948).
[7] *G. Nunez* und *J. Spiteri*, Bull. soc. chim. biol. **35**, 851 (1953).
[8] *J. Asselineau*, Bull. soc. chim. France **1952**, 884.
[9] *R. Wegemann*, Fette u. Seifen **55**, 780 (1953).
[10] *R. G. Bacher*, Biochemic. J. **54** (1953), Proc. 39.
[11] *K. Fink* und *R. M. Fink*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **70**, 654 (1949).
[12] *Y. Inoue* und *M. Noda*, J. Agric. Chem. Soc. Japan **23**, 294 (1950); **24**, 291 (1951); ref. Chem. Abstr. **45**, 8449 f (1951); **46**, 6408 a (1952).

* Während der Drucklegung erhielten wir Kenntnis über die Arbeit von *F. Micheel* und *H. Schweppe* [Angew. Chem. **66**, 136 (1954)], denen eine gute Trennung der Hydroxamate auf Zelluloseacetat-Papier gelang, sowie über die Arbeit von *H. P. Kaufmann* und *W. H. Nitsch* [Fette u. Seifen **56**, 154 (1954)], die die Fettsäuren auf mit Kohlenwasserstoffen imprägniertem Papier trennten.

Ebenso schwierig wie die Trennung der einzelnen Fettsäuren ist das Sichtbarmachen kleinster Mengen derselben am Papier. Die meisten der oben zitierten Autoren verwenden Indikatoren, wie Bromkresolpurpur, Bromphenolblau, Methylrot usw. Die erzielte Farbe der Flecken ist jedoch stark abhängig von der Beschaffenheit des Papiers und außerdem unbeständig. Dabei muß darauf aufmerksam gemacht werden, daß kleine Mengen von Fettsäuren nach dem Entwickeln des Chromatogramms viel schwerer anzufärben sind als beim gewöhnlichen Auftropfen derselben auf Papier. Dies gilt jedoch nicht nur für die genannten Indikatoren, sondern für alle anderen Methoden zur Erkennung der Fettsäureflecken. Eine Reihe solcher Methoden wurde von *H. P. Kaufmann*[13] angegeben.

Eigene Versuche.

Bei der Weiterentwicklung der von *Kaufmann* angegebenen Methode mit Fluoreszenzindikatoren fanden wir, daß sehr schöne Kontraste beim Besprühen eines alaunimprägnierten Papiers mit einer wäßrigen Lösung von Rhodamin B auftreten. Nach dem Trocknen sind die Fettsäuren im ultravioletten Licht als helle Flecken sichtbar.

Blau konnten wir die Fettsäuren auf imprägniertem und unimprägniertem Papier mit *Cyanol extra* in einer gesättigten Bleiacetatlösung anfärben. Da man die mit Farbstoff besprühten Papiere mit Wasser waschen muß, besteht die Gefahr, daß insbesondere die niederen Fettsäuren ausgewaschen werden.

Unsere Versuche zur Trennung von Fettsäuren auf unbehandeltem Papier unter Anwendung von ammoniakalischen Alkohol-Wasser-Gemischen führten zu keinen brauchbaren Ergebnissen. Es kamen dabei Methanol, Äthanol, Isopropanol, n-Butanol und n-Amylalkohol zur Anwendung. Die Lösungen müssen ammoniakalisch sein, da sich sonst die niederen Fettsäuren verflüchtigen. Die R_f-Werte waren so ungünstig und die Streifenbildung so stark, daß bei einem Gemisch dreier höherer Fettsäuren nur ein langer Streifen ohne Abgrenzung zu sehen war. Aber auch bei den niederen Fettsäuren, die teilweise getrennt werden konnten, waren die Flecken unscharf und langgestreckt.

Weitaus günstigere Ergebnisse erhielten wir, als wir mit Metallhydroxyden (Aluminium, Zink, Kupfer) imprägnierte Papiere anwendeten. Bei der Weiterverfolgung dieses Weges hat sich die Vorbehandlung des Papiers mit einer Alaunlösung als besonders gut, ja sogar als notwendig erwiesen.

Den entscheidenden Vorteil aber brachte eine Änderung des Entwicklungsgemisches. Die ammoniakalischen Alkohol-Wasser-Gemische wurden durch ein Gemisch von Tetrachlorkohlenstoff-Methanol-Ammoniak ersetzt.

[13] *H. P. Kaufmann* und *J. Budwig*, Fette u. Seifen **55**, 85 (1953).

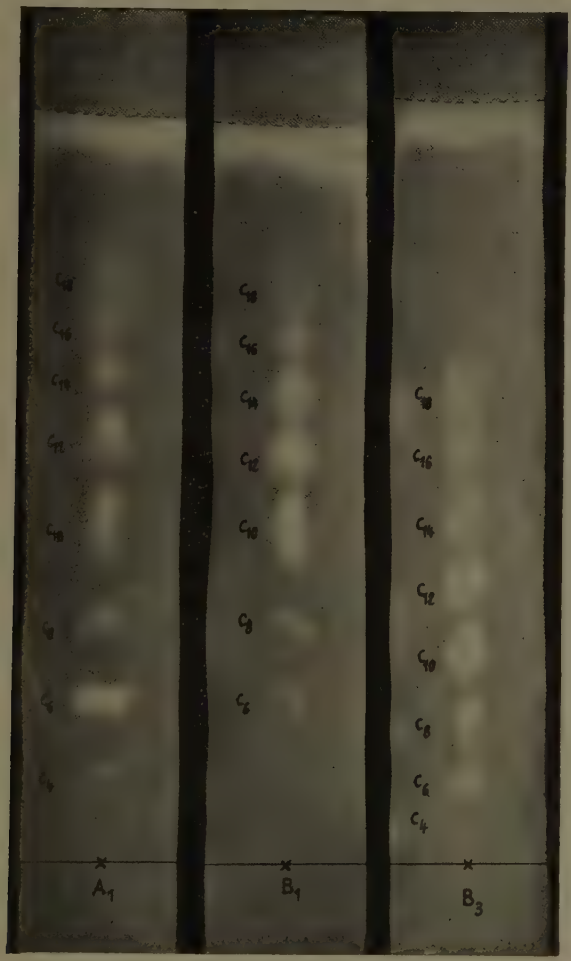


Abb. 1. Chromatogramme eines Gemisches der Fettsäuren von C_4 bis C_{18} (je 30 μg). A_1 und B_1 entwickelt mit Tetrachlorkohlenstoff-Methanol-Ammoniak im Volumverhältnis 81 : 18 : 1; A_1 gefärbt mit Rhodamin B in 0,05 n HCl und B_1 gefärbt mit Rhodamin B in Wasser. B_3 entwickelt mit Tetrachlorkohlenstoff-Methanol-Ammoniak 80 : 19 : 1 und gefärbt mit Rhodamin B in Wasser. (Aufnahme der Fluoreszenz im ultravioletten Licht.)

Arbeitsvorschrift.

Das Papier (Schleicher & Schüll 2043 b) wird in einer 0,5%igen Lösung von $KAl(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O$ gebadet. Die überschüssige Lösung läßt man abtropfen und trocknet nun das Papier bei 60 bis 100°. Man kann eine größere Menge Papier auf Vorrat imprägnieren.

Zur Entwicklung verwendet man ein Gemisch von Tetrachlorkohlenstoff, Methanol und konz. Ammoniak im Volumsverhältnis 81 : 18 : 1. Der Tetrachlorkohlenstoff sowie das vorher getrocknete Methanol werden über eine

gut wirkende Kolonne destilliert. Konz. Ammoniak p. a. (D: 0,91) und Methanol werden gemischt und dann wird die entsprechende Menge Tetrachlorkohlenstoff zugesetzt. In einem gut verschlossenen Gefäß ist das Gemisch unbegrenzt lange haltbar. Wenn sich eine Trübung zeigt, ist es zur Entwicklung ungeeignet. In dicht schließenden Entwicklungsgefäßen ist ein Gemisch für mehrere Entwicklungen so lange brauchbar, als es klar bleibt. In bestimmten Grenzen kann man auch andere Mischungsverhältnisse herstellen. Nur muß dabei beachtet werden, daß kleine Variationen relativ hohe Änderungen der R_f-Werte verursachen (siehe Abb. 1).

Zur aufsteigenden Entwicklung des eindimensionalen Chromatogramms trocknet man einen 40 cm langen, mit Alaun imprägnierten Papierstreifen $^1/_2$ Std. bei 80 bis 100°. Die petrolätherische Lösung des zu analysierenden Fettsäuregemisches wird aufgetragen, wobei das Papier 10 Min. an der Luft verbleibt. Man hängt den Streifen nun auf 2 Stdn. in den mit dem Lösungsmitteldampf gesättigten Zylinder und beginnt dann die Entwicklung durch Eintauchen des Papiers in das Entwicklungsgemisch. Der Zylinder soll dabei nicht geöffnet werden. Nach 13 bis 15 Stdn. ist die Lösungsmittelfront bei 20° C etwa 30 cm gewandert und damit ist die Entwicklung beendet. Das Papier wird bei 60 bis 70° getrocknet, mit einer 0,1%igen Lösung von Rhodamin B in 0,05 n HCl besprüht und abermals bei der angegebenen Temp. getrocknet. Die Anfärbung aller Säuren mit Ausnahme der Buttersäure gelingt auch dann, wenn Rhodamin B ohne Salzsäure aufgesprüht wird. Ein Farbstoffüberschuß ist von Nachteil. Man sieht bereits bei Tageslicht die niederen und mittleren Fettsäuren als dunkle, rot gefärbte Flecken. Im ultravioletten Licht sind alle Fettsäuren mit gerader C-Anzahl von C_4 bis C_{18} als hellrote, gut getrennte Flecken auf violetter Unterlage sichtbar. Fettsäuren über C_{18} standen uns in reiner Form nicht zur Verfügung. Es ist sehr wahrscheinlich, daß auch die Säuren mit 20 und 22 C abgetrennt werden können.

An der Front findet man einen 10 bis 15 mm breiten, stark fluoreszierenden Streifen. Es ist uns nicht gelungen, Bedingungen zu finden, unter denen das Erscheinen dieses Streifens verhindert werden kann. Die Trennung der höheren Fettsäuren wird dadurch nicht gestört.

Mengen von 10 bis 100 μg jeder Säure lassen sich aus einem Gemisch gut trennen. Es empfiehlt sich, in diesen Grenzen zu bleiben, das heißt vom Gemisch nur so viel aufzutragen, daß von der am stärksten vertretenen Säure nicht mehr als 100 μg enthalten sind. Bei Anwendung größerer Mengen werden die Flecken zu groß, worunter die Trennschärfe leidet. Wenn weniger als 10 μg vorliegen, ist die Anfärbung teilweise unzureichend.

Die R_f-Werte der gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren gehen proportional mit der Kettenlänge. Wir finden also im Chromatogramm die höchste Säure am weitesten gewandert. Die R_f-Werte der ungesättigten unterscheiden sich nicht merklich von denen der entsprechenden gesättigten Säuren. An der Abtrennung der ungesättigten Säuren von den gesättigten wird gearbeitet, worüber gegebenenfalls berichtet werden wird.

Soll ein Fettsäuregemisch untersucht werden, in dem eine oder mehrere

Tabelle 1. R_f-Werte bei Entwicklung mit einem Gemisch von Tetrachlorkohlenstoff-Methanol-Ammoniak 81 : 18 : 1.

Buttersäure	0,11	Laurinsäure	0,56
Capronsäure	0,21	Myristinsäure	0,64
Caprylsäure	0,32	Palmitinsäure	0,72
Caprinsäure	0,44	Stearinsäure	0,80

Säuren in so geringer Menge vorkommen, daß ihre Sichtbarmachung auch bei Anwendung der höchst zulässigen Menge an Gemisch nicht gelingt, so kann die Harnstoffällung oft sehr gute Dienste leisten[14]. Man kann die Bedingungen der Fällung so wählen, daß entweder die im Überschuß vorhandenen störenden oder die zu analysierenden Fettsäuren zum Großteil gefällt werden.

[14] *A. Holasek* und *M. G. Ibrahim*, Fette u. Seifen **55**, 601 (1953).

Über das vereinfachte Wolff-Kishner-Verfahren bei aromatischen Oxyoxo-Verbindungen*.

Von

G. Lock[1].

(Eingelangt am 12. April 1954.)

Aromatische Oxyoxoverbindungen werden nach einem vereinfachten *Wolff-Kishner*-Verfahren in sehr guten Ausbeuten in die entsprechenden oxofreien Verbindungen übergeführt. Das Verfahren vermeidet die Anwendung von Lösungsmitteln und erfordert viel weniger Zeit als die bisher angewendeten Arbeitsweisen.

Das fast gleichzeitig von *N. Kishner*[2], *H. Staudinger* und *O. Kupfer*[3] und *L. Wolff*[4] angegebene sogenannte „*Wolff-Kishner*-Verfahren" wird durch Erhitzen der Oxoverbindungen mit Hydrazinhydrat und Natriumalkoholat[4] oder mit Hydrazinhydrat allein[3], beide im Druckgefäß, der von Hydrazonen oder Semicarbazonen mit Natriumalkoholat ebenfalls unter Druck[4] oder mit Kaliumhydroxyd im offenen Gefäß[2] durchgeführt.

In letzter Zeit sind von *M. D. Soffer*, *M. B. Soffer* und *K. W. Sherk*[5], *C. H. Herr*, *F. C. Whitmore* und *R. W. Schießler*[6] und besonders von *Huang Minlon*[7] Modifikationen der *Wolff-Kishner*-Reaktion angegeben worden, die durch Anwendung von hochsiedenden Lösungsmitteln im

---

* Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zum 60. Geburtstag gewidmet.

[1] Anschrift: Unterach am Attersee, Oberösterreich.

[2] Chem. Zbl. **1911 II**, 363.

[3] Ber. dtsch. chem. Ges. **44**, 2197 (1911). — *H. Staudinger* und *J. Goldstein*, ibid. **49**, 1925 (1916). — *F. Mayer* und *F. A. English*, Ann. Chem. **417**, 62 (1918). — *H. Vollmann*, *H. Becker*, *M. Corell* und *H. Streeck*, ibid. **531**, 112 (1937). — *W. Borsche*, *P. Hofmann* und *H. Kühn*, ibid. **554**, 23, 32 (1943). — *I. J. Rinkes*, Rec. trav. chim. Pays-Bas **64**, 205 (1945).

[4] Ann. Chem. **394**, 86 (1912).

[5] J. Amer. Chem. Soc. **67**, 1435 (1945).

[6] J. Amer. Chem. Soc. **67**, 2061 (1945).

[7] J. Amer. Chem. Soc. **68**, 2487 (1946); **71**, 3301 (1949).

offenen Gefäß gekennzeichnet sind. Ich habe in mehreren Arbeiten[8] ebenfalls eine Modifikation ausgearbeitet, die vor allen anderen Verfahren den Vorteil der größeren Einfachheit und rascheren Durchführbarkeit besitzt.

Das vereinfachte Verfahren besteht darin, daß man die Oxoverbindung durch kurzes Kochen mit Hydrazinhydrat am Rückflußkühler in ihr Hydrazon umwandelt, etwas erkalten läßt und in das Reaktionsprodukt gepulvertes Kaliumhydroxyd einträgt und neuerlich erhitzt, bis die Stickstoffentwicklung beendet ist. Der störende Einfluß des anwesenden Wassers wird dabei durch einen großen Überschuß an Kaliumhydroxyd ausgeschaltet. Auf diese Weise gelingt es leicht, im offenen Gefäß in etwa 1 bis 3 Stdn. die *Wolff-Kishner*-Reaktion durchzuführen. Bisher sind aliphatische und aromatische Aldehyde und Ketone und Ketocarbonsäuren mit Ausbeuten von 80 bis 90% in die entsprechenden oxofreien Verbindungen übergeführt worden.

Im experimentellen Teil sind aromatische Oxyoxoverbindungen diesem Verfahren unterworfen worden, nämlich: m-Oxy-benzaldehyd, β-Naphtholaldehyd, die Dioxybenzaldehyde, Protocatechualdehyd, Vanillin, Isovanillin, Orthovanillin, Veratrumaldehyd und Guajacoldialdehyd, die halogensubstituierten 6-Brom-3-oxy-benzaldehyd, 6-Brom-vanillin und 2-Brom-isovanillin und schließlich die Oxyketone m- und p-Oxyacetophenon. Diese Oxyoxoverbindungen setzen sich wesentlich leichter um als die hydroxylgruppenfreien Oxoverbindungen, die Ausbeuten betragen auch hier meistens 80 bis 90% d. Th.

In der folgenden Tabelle sind die Ausbeuten von einigen Reduktionen von Oxyoxoverbindungen nach *Clemmensen* bzw. nach dem vereinfachten *Wolff-Kishner*-Verfahren angegeben, aus der die Überlegenheit letzterer deutlich hervorgeht[9]:

	Salicylaldehyd	m-Oxybenzaldehyd	Isovanillin	Orthovanillin
Ausbeute nach *Clemmensen*	70[10]	40[10]	28[11]	67[12]
Ausbeute nach *Wolff-Kishner*	92	92	86	82

Unter den durch die *Wolff-Kishner*-Reaktionen erhaltenen Phenolkörpern befinden sich auch zwei bisher nicht beschriebene Verbindungen:

[8] *G. Lock*, Chemie **58**, 79 (1945); Österr. Chem.-Ztg. **50**, 5 (1949); **51**, 77 (1950).

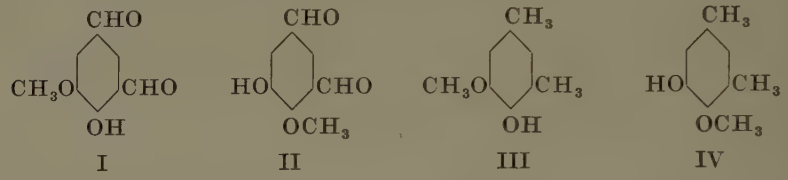
[9] Eine Ausnahme scheint die Reduktion von p-Oxy-acetophenon zu machen, die nach *E. Clemmensen* fast quantitativ verläuft.

[10] *E. Clemmensen*, Ber. dtsch. chem. Ges. **47**, 60 (1914).

[11] *A. v. Wacek* und *A. v. Bezard*, Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 845 (1941).

[12] *R. Majima* und *Okazawa*, Ber. dtsch. chem. Ges. **49**, 1488 (1916). — *S. Kawai* und *N. Sugiyama*, ibid. **72**, 367 (1939).

2-Brom-isokreosol und *4,6-Dimethyl-guajacol.* Die Konstitution des ersteren ergibt sich zwanglos aus der des Ausgangsstoffes *2-Brom-iso-vanillin*[13], das Ausgangsprodukt des anderen Phenolkörpers, ein *Guajacol-dialdehyd*[14], ein Nebenprodukt der Vanillinsynthese aus Guajacol nach *Reimer-Tiemann*, besitzt wahrscheinlich die Konstitution eines 4-Oxy-5-methoxy-1,3-isophthalaldehyd (I), eine weitere Möglichkeit wäre die Konstitution der isomeren Verbindung (II):



I II III IV

Von den aus den Verbindungen (I) und (II) durch Reduktion zu erwarten den Dimethyl-guajacolen (III) und (IV) ist die Verbindung (IV) al Flüssigkeit vom Sdp. 227 bis 228° bereits beschrieben[15], während da von uns erhaltene Produkt farblose Nadeln vom Schmp. 36° bildet Dem Guajacoldialdehyd kommt daher die Konstitution (I) und dem von uns erhaltenen Dimethyl-guajacol die Konstitution (III) zu.

Experimenteller Teil[16].

Die Oxoverbindungen wurden in überschüssiges Hydrazinhydrat einge tragen und das Gemisch am Rückflußkühler zum Sieden erhitzt, bei Aldehyde genügten einige Minuten bis $^1/_4$ Std., bei Ketonen waren 1 bis 2 Stdn. er forderlich. Dann wurde etwas erkalten gelassen, überschüssiges gepulverte Kaliumhydroxyd eingetragen und neuerlich erhitzt, bis die anfangs heftig Gasentwicklung abgeklungen war. Die Erhitzung erfolgte hier im offene Gefäß ohne Kühler, im Öl- oder Luftbad, $^1/_2$- bis 1stünd. Erhitzen auf 12 bis 150°, höchstens aber 200° genügte. Die angewandte Hydrazinhydrat menge betrug 3 bis 4 Mole, bei Verbindungen mit stärkerer Neigung zu Azinbildung wurden 6 bis 10 Mol angewandt. Die Zersetzung erfolgte be Gegenwart von 5 bis 10 Mol Ätzkali. Bei größeren Ansätzen können dies Mengen herabgesetzt werden. Bei einem sehr reaktionsfähigen Aldehyd dem 2-Oxy-1-naphthaldehyd wurde die Umsetzung mit Hydrazinhydra bei Gegenwart von Äthylalkohol durchgeführt, um die Azinbildung zurück zudrängen.

Die Aufarbeitung erfolgte durch Auflösen des erkalteten Reaktions produktes in Wasser, Ansäuern und Ausschütteln mit Äther.

In Tabelle 1 sind die Ergebnisse der Umsetzungen mit den untersuchte *Monoxy-aldehyden* angeführt.

[13] *H. Pauly*, Ber. dtsch. chem. Ges. **48**, 2012 (1915). — *Th. A. Henr* und *Th. M. Sharp*, J. Chem. Soc. London **1930**, 2279.

[14] *J.* und *P. Koetschet*, Helv. Chim. Acta **13**, 482 (1930).

[15] *W. R. Hodgkinson* und *L. Limpach*, J. Chem. Soc. London **63**, 10 (1893).

[16] Mitbearbeitet von *Helga Wagner*.

Tabelle 1.

Oxy-aldehyd	Salicylaldehyd	m-Oxy-benzaldehyd	Anisaldehyd	2-Oxy-1-naphth-aldehyd
Reaktions-produkt ..	o-Kresol	m-Kresol	p-Kresol-methyläther	1-Methyl-2-naph-thol
Schmp.	30°	—	—	110°
Sdp. (mm Hg) .	190° (756 mm) 98° (11 mm)	198° (740 mm)	175° (755 mm)	—
Ausbeute in % d. Th. .	92	92	80	82

In Tabelle 2 werden die Ergebnisse mit Dioxyaldehyden bzw. deren Methyl- oder Methylenäther angegeben. Dioxybenzaldehyde setzen sich mit Hydrazinhydrat noch leichter um als Monoxybenzaldehyde. Mit Protocatechualdehyd werden nur bei vorsichtigen Arbeiten und mit großem Hydrazinüberschuß brauchbare Ergebnisse erzielt, da die Neigung zur Azinbildung groß und die Verbindungen mit benachbarten Hydroxylgruppen in alkalischer Lösung besonders sauerstoffempfindlich sind.

Tabelle 2.

Dioxyaldehyd	Protocatechu-aldehyd	Vanillin	Iso-vanillin	Ortho-vanillin	Veratrum-aldehyd	Piperonal
Reaktions-produkt ..	Homo-brenz-catechin	Kreosol	Isokreosol	Ortho-kreosol	Homo-veratrol	3,4-Me-thylen-dioxy-toluol
Schmp.....	62°	5°	37° (aus A.) (roh: 31°)	42° (aus A.)	20—21° (aus Ligroin)	—
Sdp. (mm Hg)	244° (744 mm)	125° (30 mm)	218—221° (753 mm)	—	132° (15 mm)	196° (740 mm)
Ausbeute in % d. Th.	73	90	86	82	82	77

In Tabelle 3 sind Versuche mit bromhaltigen Oxybenzaldehyden und mit den 3 Oxy-acetophenonen angeführt. Die Zersetzung der bromsubstituierten Produkte erfolgte bei Temperaturen um 100°, um Bromabspaltung zu vermeiden. Die Rohprodukte waren hier dunkel gefärbt.

Die bisher nicht beschriebenen 4,6-Dimethyl-guajacol und 2-Bromisokreosol wurden folgendermaßen erhalten:

4,6-Dimethyl-guajacol: 9 g (0,05 Mol) *Guajacol-dialdehyd (Schuchardt)* wurden in 10 ccm Hydrazinhydrat (85%ig) eingetragen und $^1/_4$ Std. zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten wurden 20 g gepulverte KOH eingetragen

und im Luftbade auf 150 bis 200° erwärmt, bis die Stickstoffentwicklung beendet war. Durch Auflösen des erkalteten Reaktionsproduktes in Wasser Ansäuern und Ausäthern wurden 6,9 g (90% d. Th.) eines gelblichen Öles erhalten, das durch Vakuumdestillation und Kristallisation aus Petroläther gereinigt wurde.

$C_9H_{12}O_2$ (152,1). Ber. C 71,05, H 7,76. Gef. C 70,98, 70,75, H 7,94, 7,87

Tabelle 3.

Oxo-Verbindung	6-Brom-3-oxybenzaldehyd	6-Bromvanillin	o-Oxyacetophenon	m-Oxyacetophenon	p-Oxyacetophenon
Reaktionsprodukt.....	6-Brom-3-oxytoluol	6-Bromkreosol	o-Äthylphenol	m-Äthylphenol	p-Äthylphenol
Schmp.....	61,5°	76° (aus Ligroin)	—	—	44° (aus Ligroin
Sdp. (mm Hg) ..	—	—	188° (738 mm)	212° (750 mm)	—
Ausbeute in % d. Th.....	80	82	91	90	85

4,6-Dimethyl-guajacol bildet farblose Kristalle vom Schmp. 36° und Sdp.$_{750}$: 225° bzw. Sdp.$_{12}$: 110°.

2-Brom-isokreosol: 8,4 g *2-Brom-isovanillin*[13] wurden in 18 ccm Hydrazinhydrat eingetragen, einige Augenblicke auf freier Flamme erhitzt und wie oben mit 30 g gepulverter KOH bei etwa 100° zersetzt. Die Ausbeute an 2-Brom-isokreosol betrug 6,3 g (80% d. Th.).

$C_8H_9O_2Br$ (217,0). Ber. C 44,24, H 4,17. Gef. C 44,15, 44,43, H 4,19, 4,38

2-Brom-isokreosol bildet farblose Nadeln vom Schmp. 100° (aus Cyclohexan).

Cytochrom c.

I. Über die der prosthetischen Gruppe benachbarten Aminosäurereste*.

Von

H. Tuppy und **G. Bodo.**

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

Mit 3 Abbildungen.

(Eingelangt am 12. April 1954.)

In Cytochrom c sind Apoferment und prosthetische Gruppe miteinander durch zwei Cysteinreste verknüpft, die vermittels ihrer Amino- und Carboxylgruppen peptidisch in die Eiweißkomponente eingebaut sind, während ihre Sulfhydrylgruppen an die Doppelbindungen in den Seitenketten 2 und 4 eines Protohämatinmoleküls unter Ausbildung von Thioätherbrücken angelagert sind. Es wird gezeigt, daß die mit dem Hämatin verknüpften Cysteinreste im Apoferment eingefügt in die Aminosäuresequenzen

. . . Lys-CyS-Ala-Glu . . . . und . . . Glu-CyS-His . . .**

vorliegen. Die Imidazolgruppe des in der Sequenz Glu-CyS-His vorkommenden Histidinrestes stellt vermutlich eine der beiden „häm-gebundenen" und für die Hämochromogennatur des Cytochroms c verantwortlichen Gruppen dar.

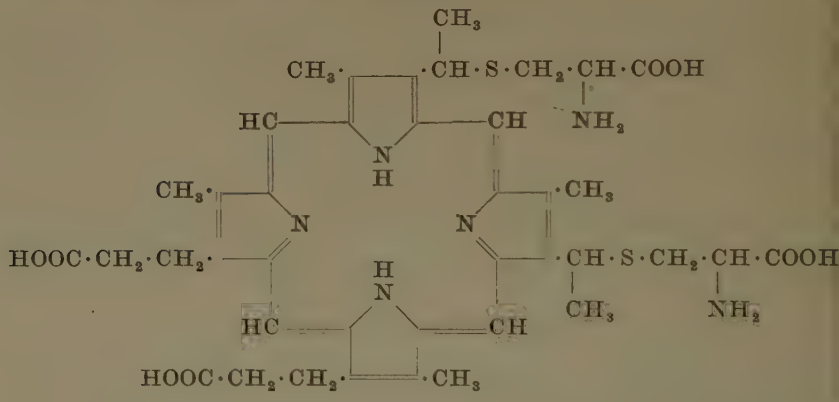
Während in anderen Hämoproteiden, in Katalase und Peroxydase, n Hämoglobin und Myoglobin, zwischen prosthetischer Gruppe und Eiweißkomponente eine verhältnismäßig lockere Verknüpfung besteht, ind diese in Cytochrom c in stabiler Weise durch zwei Thioätherbrücken

* Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zum 60. Geburtstag gewidmet.

** Zur Bezeichnung der Aminosäurereste bedienen wir uns hier und m folgenden der von *Brand* und *Edsall*[1] vorgeschlagenen Abkürzungen. $CyS)_2$ bedeutet Cystin-, CySH Cystein-, CyS Halbcystin- und $CySO_3H$ ysteinsäure- (β-Sulfoalanin-) Reste.

[1] *E. Brand* und *J. T. Edsall*, Ann. Rev. Biochem. **16**, 224 (1947).

verbunden. Deren Ausbildung ist nach *Theorell*[2, 3] und *Zeile*[4, 5] darauf zurückzuführen, daß die Sulfhydrylgruppen zweier Cysteinreste der Eiweißkomponente an die zwei ungesättigten Seitenketten 2 und 4 eines Ferriprotoporphyrinmoleküls angelagert sind. Die aus einem Porphyrin- und zwei Cysteinmolekülen zusammengesetzte und als „Porphyrin c" bezeichnete Verbindung konnte von *Theorell*[2] und von *Zeile*[4] aus Hydrolysaten des Cytochroms c isoliert werden. Die von ihnen aufgestellte Strukturformel[3, 4] wurde kürzlich von *Paul*[6] in einer neuerlichen Untersuchung als richtig befunden.



Porphyrin c.

Abgesehen von den Thioätherbindungen zwischen Hämatin und Apoenzym, ist in Cytochrom c eine Verknüpfung des Eisenatoms der prosthetischen Gruppe mit zwei wahrscheinlich stickstoffhaltigen Gruppen der Eiweißkomponente anzunehmen. Die Natur dieser beiden „häm gebundenen Gruppen" wurde vor allem von *Theorell* und seinen Mitarbeitern eingehend bearbeitet und diskutiert[6–10]. Diese Autoren kamen auf Grund der Ergebnisse spektrophotometrischer, titrimetrischer und magnetochemischer Untersuchungen sowie gewisser Analogien zu der

[2] *H. Theorell*, Biochem. Z. **298**, 242 (1938).
[3] *H. Theorell*, Enzymologia **6**, 88 (1939).
[4] *K. Zeile* und *H. Meyer*, Z. physiol. Chem. **262**, 178 (1939).
[5] *K. Zeile* und *H. Meyer*, Naturwiss. **27**, 596 (1939).
[6] *K. G. Paul*, Acta Chem. Scand. **5**, 379, 389 (1951).
[7] *H. Theorell* und *Å. Åkeson*, J. Amer. Chem. Soc. **63**, 1804, 1812, 1818, 1820 (1941).
[8] *H. Theorell*, Adv. Enzymol. **7**, 265 (1947).
[9] *E. Boeri, A. Ehrenberg, K. G. Paul* und *H. Theorell*, Biochim. Biophys. Acta **12**, 273 (1953).
[10] *K. G. Paul*, Acta Chem. Scand. **3**, 1178 (1949).

Verhältnissen beim Hämoglobin zur Überzeugung, daß mindestens eine der zwei häm-gebundenen Gruppen, vermutlich jedoch beide, Imidazolgruppen von Histidinresten sind.

Die in der vorliegenden Mitteilung beschriebenen Versuche hatten zum Ziel, die Natur jener Aminosäurereste zu bestimmen, die in Cytochrom c den beiden an das Porphyrin gebundenen Cysteinresten benachbart sind. Besonderes Interesse galt der Frage, ob sich unter ihnen etwa auch Histidinreste befinden, deren Imidazolgruppen der prosthetischen Gruppe genügend nahe wären, um für eine Bindung an das Hämatin-Eisen in Frage zu kommen.

Pferde-Cytochrom c wurde mit Säure partiell hydrolysiert. Porphyrin c und Peptide des Porphyrins c ließen sich von den im Hydrolysat in großer Menge vorkommenden freien Aminosäuren und porphyrinfreien Peptiden durch Adsorption an Talk abtrennen. Mit Hilfe der Silbersalzmethode, die *Paul* erfolgreich zur Spaltung des intakten Cytochroms c in Ferrihämatoporphyrin einerseits und freies Apoprotein anderseits angewendet hatte[10, 11], wurden hierauf aus Porphyrin c und seinen Peptiden unter Sprengung der Thioätherbrücken Cystein und Cysteinpeptide in Freiheit gesetzt. Oxydation mit Perameisensäure verwandelte diese in Cysteinsäure und Cysteinsäurepeptide. Das Peptidgemisch wurde nun der Ionophorese unterworfen, die dabei erhaltenen Fraktionen papierchromatographisch in ihre einzelnen Komponenten aufgetrennt. Es erwies sich, daß von den hierbei gefundenen und näher charakterisierten Peptiden der Cysteinsäure 4 Dipeptide und 3 Tripeptide ihren Ursprung in 2 Aminosäuresequenzen, ...Lys-CyS-Ala-Glu... und ...Glu-CyS-His..., hatten. Nur ein fünftes gefundenes Dipeptid, Ala-$CySO_3H$, ließ sich aus keiner der beiden Sequenzen herleiten. Es konnte jedoch mit großer Wahrscheinlichkeit gezeigt werden, daß dieses Peptid seine Entstehung einer unvorhergesehenen Umlagerung verdankt: Denn die für diesen Zweck synthetisch dargestellten Peptide L-Cystinyl-di-L-alanin und L-β-Sulfoalanyl-L-alanin ($CySO_3H$-Ala) erfahren, wenn sie den für die partielle Hydrolyse des Cytochroms c gewählten Bedingungen unterworfen werden, zum Teil eine Umwandlung in L-Alanyl-L-cysteinsäure bzw. Di-L-alanyl-L-cystin.

Material und Methoden.

Cytochrom c. Für die Darstellung von Cytochrom c mit einem Eisengehalt von 0,34% aus Pferdeherzmuskel hielten wir uns an die Angaben von *Keilin* und *Hartree*[12, 13], fanden allerdings häufig einen etwas niedrigeren

[11] *K. G. Paul*, Acta Chem. Scand. **4**, 239 (1950).
[12] *D. Keilin* und *E. F. Hartree*, Proc. Roy. Soc. London, Ser. B, **122**, 298 (1937).
[13] *D. Keilin* und *E. F. Hartree*, Biochemic. J. **39**, 289 (1945).

Eisenwert. Dieses Cytochrompräparat wurde für die ersten Versuche ver wendet und ergab die gleichen Ergebnisse wie das später ausschließlic eingesetzte Produkt höheren Reinheitsgrades. Die weitere Reinigung er folgte nach *Margoliash*[14] mit Hilfe des Ionenaustauschers Amberlite IRC-50 Auf diese Weise wurde regelmäßig, auch wenn das der Reinigung zugeführt Cytochrom c einen niedrigeren Eisengehalt als 0,34% hatte, ein Endproduk mit 0,42 bis 0,44% Fe gewonnen. Die durch Eluieren des Ionenaustauscher erhaltene ammoniakalische Cytochrom c-Lösung wurde nach Filtration im gefrorenen Zustand getrocknet.

Die Bestimmung des Eisengehaltes erfolgte durch Messung der Extinktio des in 0,02 m sek.-Natriumphosphatlösung mit Natriumdithionit reduzierte Cytochroms c im *Beckman*-Spektrophotometer bei 550 mμ und einer Spalt breite von 0,015 mm. Bei der Berechnung fand der von *Theorell* und *Åkeson* angegebene Extinktionskoeffizient ($\varepsilon = 2{,}84 \cdot 10^4$) Verwendung; das Trocken gewicht des Cytochroms c wurde bei 105° bestimmt.

Partielle Hydrolyse des Cytochroms c. 500 mg Cytochrom c wurden in 10 ccm Wasser gelöst und mit 80 ccm ausgekochter 20%iger Schwefelsäur versetzt. Die Mischung wurde, in einem evakuierten Bombenrohr einge schmolzen, 4 Stdn. lang auf 100° erhitzt. Für die Hydrolyse bedienten wi uns verd. Schwefelsäure, weil bei deren Verwendung (wie schon von *Zeil* und *Meyer*[4] beschrieben worden ist, die mit ihrer Hilfe Cytochrom c er folgreich zu Porphyrin c abgebaut haben) die Farbstoffkomponente de Cytochroms c in geringerem Maße Zersetzung erleidet als unter der Ein wirkung von konz. Salzsäure bei 37°. Die schwefelsaure Lösung, deren Farb im Verlaufe der 4stünd. Hydrolyse von braunrot nach violettrot umgeschlage war, wurde nach Erkalten mit konz. Natronlauge auf ein pH von 3 bis gebracht; dabei flockte ein bräunlichroter Niederschlag aus. Allenfall auskristallisierendes Natriumsulfat brachten wir durch Wasserzusatz wiede in Lösung. Nun wurden 10 g Talk, der zuvor mit 1 n Ammoniak, dann mi Wasser, hierauf mit 1 n Salzsäure und zuletzt wieder sorgfältig mit Wasse gewaschen worden war, in ein Chromatographierohr von 3 cm Durchmesse eingeschlämmt. Das schwach saure Hydrolysat des Cytochroms c mit der ausgeflockten Niederschlag wurde unter Verwendung eines geringen Unter druckes durch die etwa 2 cm hohe Talksäule gesaugt, wobei die gefärbte Bestandteile, Derivate des Porphyrins c, teils durch Filtration, teils durc Adsorption quantitativ am Talk zurückgehalten wurden. Von der mit 50 cc 0,001 n HCl und anschließend mit 150 ccm Wasser salzfrei gewaschenen Säul wurden die Porphyrinderivate mit etwa 10 ccm wäßr.-alkohol. Ammoniak (2 ccm konz. NH_3 in 100 ccm 50%igem Äthanol) eluiert. Das dunkelrot Eluat wurde im Exsikkator über konz. Schwefelsäure zur Trockene gebrach

Spaltung der Thioätherbindungen. Das die Porphyrin c-Peptide ent haltende trockene Produkt wurde in 4 ccm Wasser gelöst, mit 8 ccm Eisessi versetzt und nach Zusatz einer Lösung von 200 mg Silbersulfat in 25 cc Wasser 9 Stdn. lang unter Lichtausschluß auf 50° erhitzt. Dabei fiel al mählich eine geringe Menge eines braunen Niederschlages aus.

Reinigung und Oxydation der Cysteinpeptide. Die Aufarbeitung der vo Porphyrin losgelösten Cysteinpeptide ließ sich auf zweierlei Art bewerk stelligen:

A. Ursprüngliches Verfahren. Die dunkelrote silbersalzhaltige Lösun wurde mit 175 ccm 20%iger Essigsäure, welcher 5% Phenol zugesetzt worde

---

[14] *E. Margoliash*, Nature **170**, 1014 (1952).

war, verdünnt und auf zirka 50° erwärmt. In die Mischung wurde nun in langsamem Strom Schwefelwasserstoff eingeleitet. Der Zusatz von Essigsäure und Phenol vor der Abscheidung des Silbers erwies sich als unbedingt erforderlich, weil in deren Abwesenheit die Cysteinpeptide am ausfallenden Sulfid adsorbiert werden. (Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit *Hamoirs* Beobachtung[15], daß Cystein von Silbersulfid bevorzugt festgehalten wird. Phenol und Essigsäure waren schon von *Tiselius, Drake* und *Hagdahl*[16] zum Eluieren von Aminosäuren und von *Sanger* und *Tuppy*[17] zum Ablösen von Peptiden von Tierkohle verwendet worden.) Die Ausfällung des Silbersulfids in der phenolhaltigen Lösung ging träge vonstatten und die anschließende Filtration bereitete meistens Schwierigkeiten. Das rötlich gefärbte Filtrat wurde im Vak. bei einer Badtemp. von höchstens 40° auf etwa 7 ccm eingedampft und dadurch vom Großteil der Essigsäure befreit. Der Rückstand wurde hierauf mit 40 ccm Wasser aufgenommen und die rotbraune Lösung zur Entfernung des Phenols und eines Teiles des Farbstoffes mit 15 ccm Chloroform ausgeschüttelt. Anschließend mußte der wäßr. Lösung noch die aus dem Silbersulfat stammende Schwefelsäure durch 3maliges Ausschütteln mit je 0,25 ccm Tri-n-octylamin in 15 ccm Chloroform entzogen werden[18]. Die nunmehr gegen Kongorot neutral reagierende Flüssigkeit wurde noch 2mal mit je 10 ccm Chloroform und einmal mit 15 ccm Äther ausgeschüttelt und dann zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde in 4 ccm 87%iger Ameisensäure gelöst und zur Oxydation der Peptide des Cysteins zu solchen der Cysteinsäure[19] mit 0,4 ccm Perhydrol versetzt. Die Reaktionsmischung blieb 20 Min. bei Zimmertemp. stehen, wurde dann mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und im Vak. zur Trockene gebracht.

Zur Entfernung restlichen Farbstoffes wurde das erhaltene Produkt in 2,5 ccm 5%iger Essigsäure aufgenommen, durch eine zuvor mit 1 n HCl und mit Wasser gewaschene Talksäule (1 cm Durchmesser, 3 cm Höhe) filtriert und mit 10 ccm 5%iger Essigsäure nachgewaschen. Das Porphyrin blieb am Talk adsorbiert. Das Eluat, welches nur ganz schwach bräunlichgelb gefärbt war, wurde im Vak. zur Trockene verdampft, mit 20 ccm Wasser aufgenommen und tropfenweise mit 1 n NH_3 bis zum Umschlagspunkt von Methylrot versetzt.

B. Modifiziertes Verfahren (Oxydation der Cysteinpeptide *vor* der Ausfällung des Silbers). Die bei der Silbersulfatspaltung erhaltene Lösung wurde im Vak. zur Trockene verdampft. Der Rückstand ließ sich mit Ausnahme eines Teiles des Silbersulfats in 5 ccm 87%iger Ameisensäure lösen. Diese Lösung wurde nach Zusatz von 0,5 ccm Perhydrol 20 Min. lang stehengelassen, hierauf mit Wasser verdünnt, im Vak. eingetrocknet, nochmals mit wenig Wasser versetzt und wieder zur Trockene gebracht. Der Rückstand wurde hierauf mit 65 ccm Wasser von zirka 60° sorgfältig digeriert und das pH der Flüssigkeit durch Zusatz von 2 bis 3 Tropfen 20%iger Schwefelsäure auf ungefähr 3 gebracht. Der Großteil des Porphyrins blieb bei dieser Behandlung als brauner Niederschlag ungelöst; er wurde nach Einleiten von H_2S in die Suspension gemeinsam mit dem gefällten Silbersulfid abfiltriert.

---

[15] *G. Hamoir*, C. r. soc. biol. **137**, 734 (1943); Chem. Abstr. **39**, 3561[7].
[16] *A. Tiselius, B. Drake* und *L. Hagdahl*, Exper. **3**, 21 (1947).
[17] *F. Sanger* und *H. Tuppy*, Biochemic. J. **49**, 463 (1951).
[18] *D. E. Hughes* und *D. H. Williamson*, Biochemic. J. **48**, 487 (1951).
[19] *F. Sanger*, Biochemic. J. **44**, 126 (1949).

Da bei diesem Verfahren ein Zusatz von Essigsäure und Phenol nicht er-
forderlich ist, scheidet sich das Silbersulfid rasch und in leicht filtrierbare
Form ab. Dem stark sauren, manchmal noch etwas gelblichrot gefärbten
Filtrat wurde (wie unter A beschrieben) mit Hilfe von Trioctylamin die
Schwefelsäure und, wenn nötig, mittels Filtration durch Talk restliche
Farbstoff entzogen. Für die nun folgende Ionophorese wurde die Peptid
lösung mit 1 n NH_3 neutralisiert (Umschlag von Methylrot).

Ionophoretische Trennung. Die nahezu salzfreie und weitgehend ent
färbte Lösung wurde in der von *Sanger* und *Tuppy*[17] beschriebenen Weise
in einer aus vier Kammern zusammengesetzten Apparatur der Ionophorese
unterworfen. Dabei erfährt die Peptidmischung eine Aufspaltung in je eine
saure, neutrale und basische Fraktion. Die ionophoretische Trennung dauer
durchschnittlich 45 Min., mitunter allerdings auch länger. Nach ihrem Ende
wurde der Inhalt der Kammer mit den neutralen Peptiden sowie auch die
basische Peptidfraktion ohne weitere Vorbehandlung im Vak. zur Trockene
verdampft und zweidimensional auf Filtrierpapier chromatographiert. Aus
der sauren Peptidfraktion mußten jedoch meistens erst geringe Mengen
Schwefelsäure, die in sie aus dem benachbarten „Anodenabteil" hinein
geraten waren, entfernt werden. Zu diesem Zwecke wurde die saure Peptid
lösung zunächst bei möglichst tiefer Temp. weitgehend eingeengt; war der
Großteil der Essigsäure entfernt, wurde der ölige Rückstand mit Wasser
verdünnt, die Lösung mit Tri-n-octylamin ausgeschüttelt und dann erst
zur Trockene gebracht.

Papierchromatographie. Die angewendete Methodik entspricht im wesent
lichen der von *Sanger* und *Tuppy*[17] beschriebenen. Die beim Eindampfen
der drei Peptidfraktionen erhaltenen Rückstände wurden in je zwei gleiche
Teile geteilt. Die beiden Hälften jeder Fraktion wurden gleichzeitig unter
genau identischen Bedingungen auf Whatman Nr. 4-Filtrierpapier zwei
dimension absteigend verteilt. In der ersten Richtung (längere Seite des
Papierbogens) wurde als Lösungsmittel stets Phenol, in der zweiten Richtung
(kürzere Seite des Bogens) bald n-Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 5), bald
eine wassergesättigte Mischung aus gleichen Teilen Kollidin und Lutidin
verwendet. Die Entwicklung in der ersten Richtung wurde abgebrochen,
sobald das Lösungsmittel am unteren Rande des Bogens angelangt war;
in der zweiten Richtung ließen wir die Entwicklung 16 bis 18 Stdn. lang
vor sich gehen, unbeschadet dessen, daß das Lösungsmittel nach Erreichen
des Papierrandes von diesem abtropfte. Die getrockneten Filtrierpapier-
bögen wurden zur Lokalisierung der Peptide nach 15min. Erhitzen auf 105°
unter der UV-Lampe betrachtet: Dabei gaben sich gewöhnlich die meisten
Aminosäuren und Peptide, allerdings auch manche ninhydrinnegative
verunreinigende Substanzen durch Fluoreszenz zu erkennen[20]. Das ein
der beiden paarweise entwickelten Chromatogramme wurde anschließend
mit einer 0,025%igen alkohol. Ninhydrinlösung besprengt und vorsichtig
erwärmt. Die Kombination von Fluoreszenz und Ninhydrinfärbung er-
möglicht es, aus beiden Papierchromatogrammen die Stellen, an denen die
Peptide lokalisiert sind, korrekt auszuschneiden. Die aus dem mit Ninhydrin
behandelten Bogen eluierten Peptide wurden mit 5,7 n HCl (15 Stdn. bei 105°)
total hydrolysiert, die dabei freigesetzten Aminosäuren durch eindimensionale
Papierchromatographie identifiziert. In den aus dem zweiten Chromatogramm
eluierten Peptiden wurden die N-terminalen Aminosäurereste mit de-

[20] *D. M. P. Phillips*, Nature **161**, 53 (1948).

Dinitrofluorbenzol-Methode[21] (unter Verwendung von Triäthylamin[22] an Stelle des früher üblichen Bikarbonats) bestimmt. In Peptiden, die in größerer Menge vorlagen, konnten die amino-endständigen Aminosäurereste auch dann noch festgestellt werden, wenn das Chromatogramm, von dem jene stammten, vorher mit 0,025%iger Ninhydrinlösung besprengt worden war. Für die Hydrolyse der Dinitrophenyl- (DNP-) Peptide erwies sich im allgemeinen ein 5stünd. Erhitzen mit 5,7 n HCl auf 105° als zureichend. (Die zu Zwecken der Hydrolyse verwendete Salzsäure war vorteilhaft zuvor 2mal über $SnCl_2$ destilliert worden.) Die ätherlöslichen DNP-Aminosäuren wurden durch Chromatographie auf Papierstreifen, die mit Phthalatpuffer imprägniert worden waren, mit tert.-Amylalkohol als Verteilungsmittel identifiziert[23]. Die ätherunlöslichen DNP-Derivate (DNP-Cysteinsäure, im-DNP-Histidin, ε-DNP-Lysin usw.) konnten durch gewöhnliche Papierchromatographie mit n-Butanol-Eisessig-Wasser[17], Butanol-Pyridin-Wasser (3 : 2 : 3) oder Phenol als Lösungsmittel voneinander getrennt und unterschieden werden. Es erwies sich übrigens, daß der für die DNP-Methode gebrauchte Äther unbedingt peroxydfrei sein muß.

Synthese von L-Cystinyl-di-L-alanin und L-β-Sulfoalanyl-L-alanin (CySO$_3$H-Ala). Zur Darstellung des Cystinyl-di-alanins fand die Methode der Peptidsynthese von *Boissonnas*[24], *Wieland*[25] und *Vaughan*[26] Anwendung. Die Oxydation des Cystinpeptids zum Peptid der Cysteinsäure erfolgte nach *Toennies* und *Homiller* mit Perameisensäure[19, 27].

Di-carbobenzoxy-L-cystinyl-di-L-alaninäthylester. 4,94 g (0,01 Mol) Di-carbobenzoxy-L-cystin[28], gelöst in 10 ccm absol. Tetrahydrofuran, wurden nach Zusatz von 2,86 g (0,02 Mol) Tri-n-propylamin mit einer Eis-Kochsalz-Mischung auf — 12° gekühlt. Dann wurden tropfenweise 2,16 g (1,9 ccm; 0,02 Mol) Chlorkohlensäureäthylester und nach weiteren 10 Min. bei — 12° langsam 2,6 g (0,022 Mol) L-Alaninäthylester[29] zugegeben. Die Mischung wurde hierauf noch einige Min. in der Kälte und dann 16 Stdn. lang bei Zimmertemp. stehengelassen, wobei sie allmählich infolge Abscheidung langer weißer Kristallnadeln erstarrte. Bei Erhitzen der Reaktionsmischung mit 200 ccm Essigester ging die Kristallmasse in Lösung. Die noch etwas warme Lösung wurde mit 50 ccm 5%iger Sodalösung ausgeschüttelt. Beim anschließenden Waschen der Essigesterlösung mit Wasser fiel ein großer Teil des Carbobenzoxy-cystinyl-di-alaninesters in kristallisierter Form aus; er wurde abgesaugt und nacheinander mit 95%igem Äthanol, mit Wasser und nochmals mit Alkohol gewaschen. Um den Rest des Reaktionsproduktes zu gewinnen, wurde die durch Absaugen von der auskristallisierten Substanz befreite Essigesterlösung mit Wasser, 1 n HCl und wieder mit Wasser gewaschen, mit $CaCl_2$ getrocknet und im Vak. zur Trockene verdampft. Der 3mal mit je 20 ccm kaltem Alkohol digerierte Rückstand wurde mit dem

---

[21] *F. Sanger*, Biochemic. J. **39**, 507 (1945).
[22] *F. Sanger* und *E. O. P. Thompson*, Biochemic. J. **53**, 353 (1953).
[23] *S. Blackburn* und *A. G. Lowther*, Biochemic. J. **48**, 126 (1951).
[24] *R. A. Boissonnas*, Helv. Chim. Acta **34**, 874 (1951).
[25] *Th. Wieland* und *H. Bernhard*, Ann. Chem. **572**, 190 (1951).
[26] *J. R. Vaughan*, J. Amer. Chem. Soc. **73**, 3547 (1951). — *J. R. Vaughan* und *R. L. Osato*, ibid. **74**, 676 (1952).
[27] *G. Toennies* und *R. P. Homiller*, J. Amer. Chem. Soc. **64**, 3054 (1942).
[28] *M. Bergmann* und *L. Zervas*, Ber. dtsch. chem. Ges. **65**, 1192 (1932).
[29] *E. Fischer*, Ber. dtsch. chem. Ges. **34**, 442 (1901).

zuvor abgesaugten Produkt vereinigt und aus 60 ccm 95%igem Alkohol umkristallisiert. Nach längerem Stehen im Eisschrank wurde die aus weißen Nadeln bestehende Kristallmasse abgesaugt. Ausbeute 4,95 g (70% d. Th.). Schmp. (im *Kofler*-Mikroschmp.-Apparat) 164 bis 170°. Nach Umkristallisieren aus Essigester, dann aus absol. Methanol und Trocknen bei 100° im Vak. schmolzen die Kristallnadeln bei 168,5 bis 170,5°.

$C_{32}H_{42}O_{10}N_4S_2$. Ber. S 9,07. Gef. S 8,78.

Di-carbobenzoxy-L-cystinyl-di-L-alanin. 4,4 g des Esters wurden in 70 ccm warmem Dioxan gelöst. Zu der auf Zimmertemp. abgekühlten Lösung, aus der sich ein Teil des Esters wieder abgeschieden hatte, wurden langsam unter Schütteln 13,9 ccm 1 n NaOH (10% Überschuß) hinzugefügt. Im Verlauf von zirka 15 Min. ging der ungelöste Teil des Esters in Lösung und es trat leichte Gelbfärbung ein. Als nach 30 Min. eine Probe der Lösung nach Wasserzusatz fast keine Ausscheidung unverseiften Esters mehr zeigte, wurde das pH durch Zugabe von 10 ccm 1 n HCl auf 6 gebracht und die Lösung im Vak. auf 20 ccm eingeengt. Das dabei ausgeschiedene weiße Produkt ging bei Zusatz von 50 ccm gesättigter $NaHCO_3$-Lösung bis auf einen kleinen Rest, der abfiltriert wurde, in Lösung. Das bikarbonat-alkalische Filtrat wurde mit Essigester 3mal ausgeschüttelt, nochmals filtriert und nach Vertreiben des in ihr gelösten Essigesters durch kurzes Aufkochen mit Salzsäure (1 : 1) auf pH 1 gebracht. Dabei fiel ein weißer gallertiger Niederschlag aus. Dieser wurde nach 12stünd. Stehen im Eisschrank abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute 2,25 g (56% d. Th.). Ein kleiner Teil dieses Produktes wurde zur weiteren Reinigung mit siedendem Alkohol behandelt; nach Abfiltrieren von ein wenig Ungelöstem wurde das klare Filtrat mit einem gleichen Volumen Wasser versetzt. Beim Abkühlen schieden sich lange weiße Nadeln, die nach Trocknen bei 100° (im Vak.), bei 190 bis 194° *(Kofler)* schmolzen.

$C_{28}H_{34}O_{10}N_4S_2$. Ber. S 9,85. Gef. S 9,54.

L-Cystinyl-di-L-alanin. Die Abspaltung der Carbobenzoxy-Gruppen erfolgte nach *Loring* und *du Vigneaud*[30] mit Natrium in flüss. NH_3. In eine mit Trockeneis-Aceton-Mischung gekühlte Lösung von 1,8 g Di-carbobenzoxy-cystinyl-di-alanin in 25 ccm flüss. NH_3 wurden allmählich kleine Stücke Natriummetall unter Umschütteln eingetragen. Dabei schied sich nach und nach ein weißer Niederschlag ab. Das Ende der Reaktion gab sich dadurch zu erkennen, daß die durch gelöstes Natrium hervorgerufene Blaufärbung der Reaktionsmischung einige Min. lang anhielt. Die zugesetzte Menge Natrium betrug etwa 0,45 g. Nun wurde der flüss. NH_3 abgedampft. Letzte Reste Ammoniaks ließen sich durch Evakuieren, Aufnehmen des Rückstandes in wenig Eiswasser und nochmaliges Evakuieren entfernen. Dann wurde das Reaktionsprodukt unter Eiskühlung in wenigen ccm Wasser gelöst und mit konstant siedender Jodwasserstoffsäure (zirka 3 ccm) auf pH 3 gebracht. Die nach Eindampfen der Lösung im Vak. zurückbleibende Masse wurde mit 50 ccm absol. Äthanol sorgfältig digeriert, das ungelöste Produkt durch Zentrifugieren abgetrennt und nochmals mit 20 ccm absol. Alkohol gewaschen. Der so erhaltene feste weiße Körper wurde mit 5 ccm Wasser aufgenommen. Er ging hierbei zum größten Teil in Lösung. Nun wurde zur Oxydation der Sulfhydryl- zu Disulfidgruppen Luft durchperlen gelassen, bis die Farbreaktion auf Thiole mit Natriumnitroprussid negativ

[30] *H. S. Loring* und *V. du Vigneaud*, J. Biol. Chem. 111, 385 (1935).

war. Während der Oxydation nahm der anfangs nur geringe weiße Niederschlag von L-Cystinyl-di-L-alanin an Menge bedeutend zu. Nach Zusatz von weiteren 5 ccm Wasser wurde zum Sieden erhitzt und das Cystinyl-di-alanin nach 16stünd. Stehen im Eisschrank abgesaugt, 3mal mit etwas Wasser und einmal mit Alkohol gewaschen. Ausbeute 0,27 g (26% d. Th.). Wurde die Mutterlösung zur Trockene verdampft, erhielten wir weitere 0,17 g eines weniger reinen Produktes. Zur weiteren Reinigung wurden 0,27 g des umkristallisierten Peptids in 6 ccm Wasser unter Zusatz von 3 Tropfen konz. HCl gelöst; nach Entfernung unlöslicher Verunreinigungen durch Zentrifugieren wurde die klare Flüssigkeit mit Hilfe von 1 n NH_3 wieder auf ein pH von 5 bis 6 gebracht. Die Kristalle, die sich langsam ausschieden, wurden nach 2tägigem Stehen im Eisschrank abgesaugt, mit wenig Wasser und mit Alkohol gewaschen und bei 100° im Vak. getrocknet. Ausbeute 0,20 g.

$C_{12}H_{22}O_6N_4S_2$. Ber. S 16,76. Gef. S 16,48.

$[\alpha]_D^{20°} = -137°$ (5%ige Lösung in 1 n HCl).

L-β-Sulfoalanyl-L-alanin (L-$CySO_3H$-L-Ala). 50 mg L-Cystinyl-di-L-alanin wurden mit einer Mischung von 0,1 ccm Perhydrol und 0,9 ccm 87%iger Ameisensäure versetzt. Das Peptid löste sich rasch unter Erwärmung des Reaktionsgemisches auf. Nach 15 Min. Stehen bei Zimmertemp. wurde die Lösung mit 0,5 ccm Wasser versetzt und in einem Exsikkator zur Trockene gebracht. Der Rückstand wurde nochmals mit etwas Wasser aufgenommen und wieder eingetrocknet. Das Cysteinsäurepeptid bildete eine farblose, kristallisierbare, jedoch äußerst hygroskopische Masse. Es war papierchromatographisch einheitlich (Fleck Nr. 3 in Abb. 3).

Versuche zur Umlagerung von L-β-Sulfoalanyl-L-alanin ($CySO_3H$-Ala) und L-Cystinyl-di-L-alanin. Jedes der beiden Peptide wurde sowohl mit 20%iger Schwefelsäure als auch mit stark verd. Schwefelsäure behandelt. Es wurden jeweils 250 μg Peptid in 0,1 bis 0,15 ccm schwefelsaurer Lösung, in eine Glaskapillare eingeschmolzen, 4 Stdn. lang auf 105° erhitzt. Dann wurden die Lösungen aus den Kapillaren herausgeblasen, mit Wasser auf zirka 1 ccm verdünnt, zur Entfernung der Schwefelsäure mit einer Lösung von Tri-n-octylamin in Chloroform ausgeschüttelt und schließlich zur Trockene verdampft. Bei den Umlagerungsversuchen mit Cystinyl-di-alanin schloß sich hieran noch eine Oxydation des trockenen Rückstandes mit einer Mischung von 10 μl Perhydrol und 100 μl 87%iger Ameisensäure (20 Min. bei Zimmertemp.).

Zuletzt wurde mit Hilfe der zweidimensionalen Papierchromatographie festgestellt, ob und in welchen Mengen in den Reaktionsprodukten das dem unveränderten Peptid entsprechende L-$CySO_3H$-L-Ala, das durch Umlagerung entstehende Dipeptid L-Ala-L-$CySO_3H$ sowie die durch Hydrolyse gebildeten freien Aminosäuren $CySO_3H$ und Ala vorhanden waren. Diese vier Substanzen ließen sich auf halben Bögen Whatman Nr. 4-Filtrierpapier mit Phenol-0,3% NH_3-HCN und n-Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 5) als Lösungsmittel klar voneinander trennen (Abb. 3).

Ergebnisse.

Aus den in Cytochrom c durch Thioätherbindungen mit der prosthetischen Gruppe verknüpften Cysteinresten entstehen durch die im vorhergehenden Abschnitt beschriebene längere Prozedur Cysteinsäure und

Tabelle 1. Saure Peptidfraktion.

Fleck Nr. (Abb. 1)	Farbe mit Ninhydrin	Nach Hydrolyse nachgewiesene Aminosäuren	Nach Dinitrophenylierung und Hydrolyse nachgewiesene		Struktur
			DNP-Aminosäuren	Aminosäuren	
A 1*	violett	$CySO_3H$ (× × × ×)	DNP-$CySO_3H$ (× × × ×)		$CySO_3H$
A 2*	violett	$CySO_3H$ (× ×) Glu (× ×)	DNP-Glu (×)	$CySO_3H$ (× ×)	Glu-$CySO_3H$
A 3	gelb → violett	$CySO_3H$ (×) Glu (×) Ala (×)	DNP-$CySO_3H$ (?)	Glu (×) Ala (?)	$CySO_3H$-[Ala, Glu]
A 4	gelb → violett	$CySO_3H$ (× × ×) Ala (× × × ×)	DNP-$CySO_3H$ (× × ×)	Ala (× × × ×)	$CySO_3H$-Ala
A 5	violett	$CySO_3H$ (×) Ala (× ×)	DNP-Ala (×)	$CySO_3H$ (× ×)	Ala-$CySO_3H$
A 6	violett	$CySO_3H$ (× ×) Glu (× × ×) His (× × ×)	DNP-Glu (× ×) im-DNP-His (× × ×)	$CySO_3H$ (× × ×)	Glu-[$CySO_3H$, His]
A 7	violett	Glu (?)			Glu

* $CySO_3H$ und Glu-$CySO_3H$ (*A* 1 und *A* 2) waren nicht immer voneinander scharf getrennt.

Tabelle 2. Neutrale Peptidfraktion.

Fleck Nr. (Abb. 2)	Farbe mit Ninhydrin	Nach Hydrolyse nachgewiesene Aminosäuren	Nach Dinitrophenylierung und Hydrolyse nachgewiesene		Struktur
			DNP-Aminosäuren	Aminosäuren	
M 1	violett	$CySO_3H$ (× × × ×) Lys (× × × ×)	di-DNP-Lys (?)	$CySO_3H$ (× ×)	Lys-$CySO_3H$
M 2	violett	$CySO_3H$ (× ×) Lys (× ×) Ala (× ×)		$CySO_3H$ (×) Ala (×)	Lys-[$CySO_3H$, Ala]
M 3	gelb → violett	His (× × × × ×) $CySO_3H$ (× × × × ×)	im-DNP-His (× × × ×) DNP-$CySO_3H$ (× × × ×)		$CySO_3H$-His
M 4	grauviolett	Gly (× ×)			Gly
M 5	violett	Ser (?)			Ser
M 6	violett	$CySO_3H$ (×) Glu (×) His (×)	DNP-Glu (?) im-DNP-His (?)	$CySO_3H$ (?)	Glu-[$CySO_3H$, His]
M 7	violett	Glu (×) Lys (×)			?
M 8*	violett	Glu (× × ×) Ala (× ×) $CySO_3H$ (× × ×) His (× ×)	DNP-Ala (× ×) im-DNP-His (× ×)	Glu (× ×) $CySO_3H$ (× ×)	Ala-[Glu, $CySO_3H$, His]*

* *M* 8 wurde ein einziges Mal gefunden, als Cytochrom c mit verd. H_2SO_4 nur 2 Stdn. lang (statt 4 Stdn.) hydrolysiert worden war.

Cysteinsäurepeptide. Nach der Ionophorese ihres Gemisches finden sich Peptide der Cysteinsäure teils in der sauren, teils in der neutralen Fraktion. Die basische Fraktion, in der Cysteinsäure nur dann vorkommen könnte,

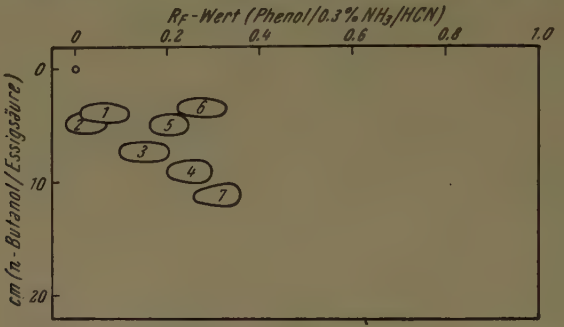


Abb. 1. Chromatogramm der sauren Peptidfraktion *A*. Vgl. Tabelle 1.

wenn sie mit zwei basischen Aminosäuren in einem Peptid verbunden wäre, war hingegen cysteinsäurefrei. Die Abb. 1 und 2 stellen Papierchromatogramme der sauren und neutralen Fraktion dar. Die bei der näheren Untersuchung ihrer Komponenten erhaltenen Resultate sind in den Tabellen 1 und 2 wiedergegeben.

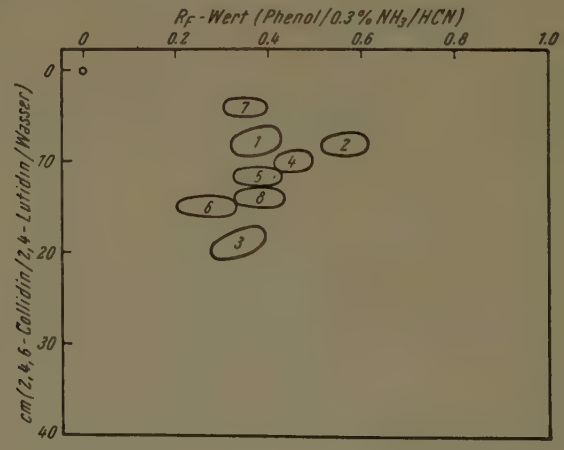


Abb. 2. Chromatogramm der neutralen Peptidfraktion *M*. Vgl. Tabelle 2.

Die in den Tabellen übersichtlich zusammengestellten Ergebnisse stammen nicht von einem einzigen Versuch, sondern sind im Verlaufe wiederholter Bemühungen erarbeitet worden. In den Tabellen dient die Zahl der Kreuze (×) neben Aminosäuren oder DNP-Aminosäuren als approximative Angabe der Menge, in der diese chromatographisch gefunden worden sind. Eine geringe Quantität ist durch ein Fragezeichen (?) gekennzeichnet.

Wie aus den Tabellen 1 und 2 hervorgeht, bestehen die saure Peptidfraktion (*A*) und die neutrale Fraktion (*M*) fast ausschließlich aus cysteinsäurehaltigen Komponenten; neben diesen wurden bloß noch kleinere Mengen freier Aminosäuren (so z. B. *A* 7, *M* 4, *M* 5) und eines Dipeptids (*M* 7) als Verunreinigungen gefunden.

Die in den beiden Fraktionen untersuchten und näher charakterisierten Peptide Lys-$CySO_3H$ (*M* 1), Lys-[$CySO_3H$, Ala] (*M* 2), $CySO_3H$-Ala (*A* 4), $CySO_3H$-[Ala. Glu] (*A* 3) einerseits und Glu-$CySO_3H$ (*A* 2), $CySO_3H$-His (*M* 3), Glu-[$CySO_3H$, His] (*A* 6, *M* 6) anderseits lassen sich zu zwei Aminosäuresequenzen, Lys-$CySO_3H$-Ala-Glu und Glu-$CySO_3H$-His, zusammensetzen.

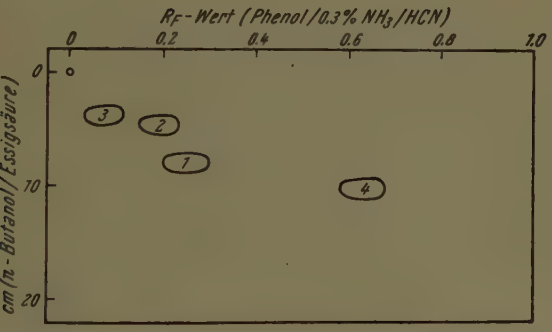


Abb. 3. Chromatographische Trennung von $CySO_3H$—Ala, Ala—$CySO_3H$, $CySO_3H$ und Ala. Vgl. Tabelle 3.

Zusätzlich zu den vier Dipeptiden *M* 1, *A* 4, *A* 2 und *M* 3, welche eben zur Aufstellung der zwei Aminosäurefolgen verwendet worden sind, wurde jedoch — entgegen allen Erwartungen und theoretischen Überlegungen — auch noch ein fünftes, Ala-$CySO_3H$ (*A* 5) gefunden, welches sich in die zwei Sequenzen nicht einordnen läßt. Ala-$CySO_3H$ erschien in der sauren Fraktion in wechselnder, meist geringer Menge. Dies und die Tatsache, daß Ala-$CySO_3H$ im Peptidgemisch als Begleiter des Isomeren, $CySO_3H$-Ala (*A* 4), auftrat, legte die Vermutung nahe, daß es ein durch Umlagerung entstandenes Artefakt ist. Eine Umlagerung wäre denkbar sowohl bereits bei der anfänglichen partiellen Hydrolyse des Cytochroms c mit 20%iger Schwefelsäure

$$\begin{pmatrix} \text{CyS-Ala} & \rightarrow & \text{Ala-CyS} \\ | & & | \\ \text{Porphyrin} & & \text{Porphyrin} \end{pmatrix}$$

als auch erst später bei der weiteren Aufarbeitung (CySH-Ala → Ala-CySH oder $CySO_3H$-Ala → Ala-$CySO_3H$). Daß eine Umlagerung von Dipeptiden in verdünnter Säure eintreten kann, haben *Sanger* und *Thompson*[31] kürzlich am Beispiel des Glycyl-

[31] *F. Sanger* und *E. O. P. Thompson*, Biochim. Biophys. Acta 9, 225 (1952).

valins demonstriert. Diketopiperazine, die bei solchen Inversionen als Zwischenprodukte fungieren dürften, scheinen sich verhältnismäßig leicht in heißer schwefelsaurer Lösung zu bilden[32, 33].

Um die Möglichkeit der Entstehung von Ala-$CySO_3H$ durch eine Peptidumlagerung zu prüfen, erhitzten wir die für diesen Zweck synthetisierten Verbindungen L-Cystinyl-di-L-alanin und $CySO_3H$-Ala in verdünnter Schwefelsäure, unter Bedingungen, welche die bei der Hydrolyse des Cytochroms c und bei der Aufarbeitung der Peptide herrschenden Verhältnisse nachahmen sollten; in der Tat trat bei allen angestellten Versuchen in beträchtlichem Maße Peptidumlagerung ein (Abb. 3 und Tabelle 3).

Tabelle 3. Versuche zur Peptidumlagerung in schwefelsaurer Lösung.

Ausgangsprodukt	Versuchsbedingungen	Aufarbeitung	Endprodukte (vgl. Abb. 3)			
			$CySO_3H$ Fleck 1	Ala 2	$CySO_3H$-Ala 3*	Ala-$CySO_3H$ 4**
CyS-Ala | CyS-Ala	20%ige H_2SO_4, 4 Stdn., 105°	Oxydation mit HCOOOH	××××	××××	×	××
CyS-Ala | CyS-Ala	verd. H_2SO_4, pH 1,5, 4 Stdn., 105°	Oxydation mit HCOOOH	Spur	Spur	×	××
$CySO_3H$-Ala	20%ige H_2SO_4, 4 Stdn., 105°		×××	×××	×	××
$CySO_3H$-Ala	verd. H_2SO_4, pH 2,5, 4 Stdn., 105°		Spur	Spur	×	××

Dieser Befund stellt zwar noch keinen absoluten Beweis, wohl aber eine kräftige Stütze für die Annahme dar, daß das Dipeptid Ala-$CySO_3H$, welches sich in die Aminosäuresequenzen Lys-$CySO_3H$-Ala-Glu und Glu-$CySO_3H$-His nicht einfügen ließ, ein durch Umlagerung entstandenes

[32] *E. Abderhalden* und *E. Komm*, Z. physiol. Chem. **139**, 147 (1924).

[33] *R. Hirohata, Y. Kanda, M. Nakamura, N. Izumiya, A. Nagamatsu, T. Ono, S. Fujii* und *M. Kimitsuki*, Z. physiol. Chem. **295**, 368 (1953).

* Gab mit Ninhydrin eine gelbe und erst nach längerem Erhitzen violette Färbung; nach Dinitrophenylierung und Hydrolyse wurden DNP-$CySO_3H$ und freies Ala gefunden.

** Gab mit Ninhydrin eine schwache violette Färbung; nach Dinitrophenylierung und Hydrolyse wurden DNP-Ala und freie $CySO_3H$ gefunden.

Artefakt ist. Die immer noch bestehende Unsicherheit konnte schließlich in weiteren Untersuchungen über die Struktur des Cytochroms c, über die später berichtet werden wird[34], beseitigt werden: Unter Abbaubedingungen, die keine Möglichkeit zu Peptidumlagerungen boten, wurde das Peptid Ala-CySO$_3$H nicht mehr gefunden und die Richtigkeit der hier angegebenen Aminosäurefolgen bestätigt.

Es ist somit der sichere Schluß zulässig, daß in jener Region der Eiweißkomponente des Cytochroms c, die sich in unmittelbarer Nähe der prosthetischen Gruppe befindet, Aminosäurereste zu den Sequenzen Lys-CyS-Ala-Glu und Glu-CyS-His zusammengefügt vorliegen, wobei die in ihnen enthaltenen Halbcystinreste jene sind, deren Schwefelatome durch Ausbildung von Thioätherbrücken die Verknüpfung von Proteinanteil und prosthetischer Gruppe bewerkstelligen. Es kann allerdings derzeit nicht entschieden werden, welche der beiden Aminosäuresequenzen mit der Seitenkette 2 und welche mit der Seitenkette 4 des Ferriporphyrins der prosthetischen Gruppe verbunden ist.

Einer gesonderten Beachtung wert ist die Tatsache, daß einer der Histidinreste des Cytochroms c, deren es nach *Theorell* und *Åkeson*[7] insgesamt drei gibt, in direkter Verbindung mit einem der beiden hämatingebundenen Halbcystinreste und somit in unmittelbarer Nachbarschaft zur prosthetischen Gruppe selbst steht. Dies läßt vermuten, daß es sich bei der Imidazolgruppe dieses Histidinrestes um eine der beiden mit dem Eisenatom der prosthetischen Gruppe verknüpften und für das Hämochromogenspektrum des Ferments verantwortlichen Gruppen des Proteins handelt.

Die Mikro-S-Analysen wurden von Dr. *G. Kainz* im Mikroanalytischen Laboratorium des II. Chemischen Instituts ausgeführt.

Für sein förderndes Interesse an dieser Arbeit sind wir dem Vorstand unseres Institutes, Herrn Prof. Dr. *F. Wessely*, zu großem Dank verpflichtet.

Einer von uns *(H. T.)* dankt für die Hilfe, die ihm von der Österreichischen Akademie der Wissenschaften aus den Mitteln der *Seegen*-Stiftung gewährt worden ist.

[34] *H. Tuppy* und *G. Bodo*, Mh. Chem. 85 (1954), im Druck.

L-Desoxy-chloromycetin*.

(L-3-p-Nitrophenyl-2-dichloracetamido-propanol-1, II. Mitt.[1])

Von

K. Eiter und **K. Letnansky.**

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 20. April 1954.)

Aldolkondensationen von p-Nitrobenzaldehyd und acylierten Aminoacetaldehyden nach Angabe von *S. Tatsuoka* und Mitarbeitern[2] konnten nicht reproduziert werden.

Das Thiosemicarbazon des bereits beschriebenen α-Dichloracetamido-p-nitrozimtaldehyds IV zeigt bei In-vitro-Versuchen eine gute tuberkulostatische Wirkung.

Die in der I. Mitteilung geäußerte Annahme, daß bei der Reduktion von II mit gärender Hefe eine Umlagerung unter Bildung der Verbindung X vom Schmp. 185° eingetreten ist, wurde überprüft. Es stellte sich heraus, daß der genannte Stoff das O,N-Diacetat der L-Verbindung von V ist, welche zufälligerweise in Methanol und Pyridin keine meßbare optische Aktivität erkennen ließ. Die phytochemische Reduktion von substituierten Zimtaldehyden der Formel II und III führt je nach Verwendung bestimmter Hefestämme entweder zu optisch inaktiven oder aktiven Verbindungen der Formeln VI bzw. VIII.

Der eine von uns *(K. E.)* hat vor längerer Zeit über die Synthes des D,L-Desoxy-chloromycetins VIII berichtet. Damals wurde vo Versuchen ausgegangen, welche sich die Synthese des Antibiotikum Chloromycetin (Chloramphenicol) selbst zum Ziele setzten; es wurd versucht, Benzaldehyd bzw. p-Nitro-benzaldehyd mit N-acylierte Aminoacetaldehyden unter mannigfacher Variation der Versuchs bedingungen einer Aldolkondensation zum entsprechenden 3-Phenyl

---

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *L. Ebert* in Verehrung zum 60. Geburtstag ge widmet.

[1] Mh. Chem. **83**, 123 (1952).

bzw. 3-p-Nitrophenyl-2-acylaminopropanol-3-al-1 I zu unterwerfen. Es gelang uns nicht, diese Verbindung zu isolieren.

Zu unserer Überraschung erhielten wir Kenntnis von einer Arbeit von *S. Tatsuoka, A. Morimoto, A. Miyake, M. Miyamoto, J. Ueyanagi, T. Shimada* und *H. Miyazaki*[2], die die Kondensation von p-Nitrobenzaldehyd mit N-Benzoylaminoacetaldehyd in Gegenwart von Triäthylamin durchführten und angeblich zum erythro-Racemat des oben angeführten Acylaminooxyaldehyds I gelangten. Angesichts unserer seinerzeitigen vergeblichen Bemühungen um die Herstellung dieser Verbindung haben wir die Angaben der japanischen Autoren wiederholt nachgearbeitet, wobei es uns nicht gelang, die gewünschte Substanz zu isolieren.

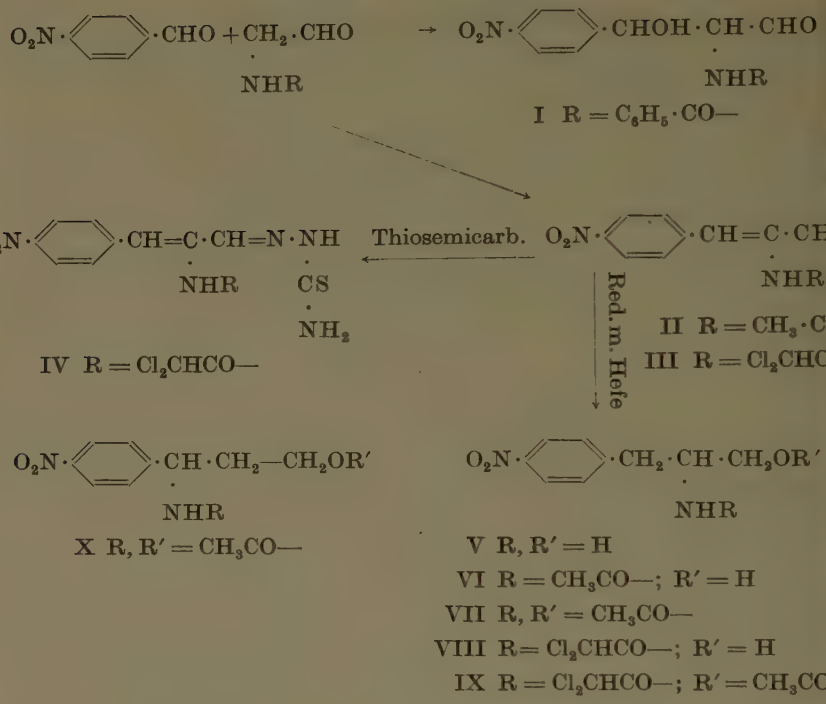
Der für die Aldolkondensation benötigte freie Hippuraldehyd, welcher bereits früher von *E. Fischer*[3] beschrieben worden war, wurde von uns aus dem Hippuraldehyddiäthylacetal vom Schmp. 38° durch Hydrolyse mit 10%iger Schwefelsäure gewonnen, wobei wir in Versuchsreihen die Verseifungstemperaturen und -zeiten zur Gewinnung optimaler Aldehydmengen ermittelt haben. Die Ausbeuten an p-Nitrophenylhydrazon des gebildeten Hippuraldehyds ließen erkennen, daß eine annähernd quantitative Verseifung des Acetals in 10%iger Schwefelsäure beim Erhitzen auf 50° durch $^1/_2$ Std. erfolgt war. Die Angaben der japanischen Autoren bezüglich der Verseifung des auch von uns bereits beschriebenen Dichloracetamino-acetaldehyd-diäthylacetals vom Schmp. 56° zum freien Aldehyd durch dreistündiges Stehenlassen des Acetals mit 10%iger Schwefelsäure bei Zimmertemperatur sind nach unseren Beobachtungen nicht ganz zutreffend; nach dieser Zeit konnten wir unverändertes Acetal zurückgewinnen, die Ausbeuten an Aldehyd, wieder bestimmt als p-Nitrophenylhydrazon, betrugen 55%. Die japanischen Autoren geben an, daß ihnen eine Aldolkondensation von p-Nitrobenzaldehyd und Dichloracetaminoacetaldehyd nicht gelungen ist.

Obwohl wir also alle Versuchsbedingungen zum Gelingen der von den zitierten Autoren beschriebenen Aldolkondensation geschaffen hatten, ergab die Aufarbeitung der Ansätze, die zur Erfassung etwaiger geringster Mengen gebildeten Oxy-acylaminoaldehyds öfters auch unter Heranziehung der Molekulardestillation vorgenommen wurde, keine Verbindung der beschriebenen Art. Wir können damit nur frühere Literaturangaben bestätigen, welche bei solchen Kondensationen nur teerige Produkte isolieren konnten.

Wie bereits von uns beschrieben, ließ sich das Phenylpropan-skelett aus z. B. p-Nitrobenzaldehyd und Acylamino-acetaldehyd-diäthylacetalen

---

[2] J. Pharm. Soc. Japan **71**, 776 (1950).
[3] Ber. dtsch. chem. Ges. **26**, 464 (1893).



sehr wohl aufbauen, wenn die *Knövenagel*sche Kondensation beider Komponenten durch kurzes Kochen in Eisessig bei Gegenwart von z. B. wenig Piperidin vorgenommen wurde. Auf diese Weise gelang bei Verwendung von N-Acetylamino-acetaldehyd-diäthylacetal die Darstellung von p-Nitro-α-acetamido-zimtaldehyd II, beim Einsatz von Dichloracetyl-aminoacetal die Synthese von p-Nitro-α-dichloracetamido-zimtaldehyd III. Diese Substanz zeigte bei der seinerzeitigen biologischen Testung gegen Shigella sonnei bereits eine Hemmwirkung, so daß wir es für aussichtsreich hielten, von diesem Aldehyd das Thiosemikarbazon IV herzustellen, um es auf seine tuberkulostatische Wirkung prüfen zu lassen. Die Annahme einer tuberkulostatischen Wirkung war durch das Vorhandensein von drei konstitutiven Merkmalen des Moleküls zu erwarten: 1. Die Thiosemikarbazon-Gruppierung, 2. die Cinnamyl-Struktur, welche ja schon lange als tuberkulostatisch wirksam bekannt ist, und 3. der dem Antibiotikum Chloromycetin analoge Bau.

Das Thiosemikarbazon des Aldehyds III ist ein gelber, kristallisierter Körper, von dem sich in Wasser bei Zimmertemperatur nur knapp $3\,\gamma$/ml lösen; während die Löslichkeit in Alkohol mäßig ist, löst sich die Verbindung in Pyridin, Dimethylformamid und Urethan gut. Zur biologischen Testung kam die Substanz in einem Urethan-Wasser-Gemisch

gelöst zur Anwendung. Die von Herrn Dozent Dr. *Zischka* am Pathologischen Institut der Universität Wien in freundlicher Weise vorgenommenen Hemmversuche an M. tuberculosis, Typ. humanis, für die wir an dieser Stelle bestens danken, ergaben eine absolute Hemmung der Bakterien in sämtlichen mit dem Thiosemikarbazon versetzten Nährböden bis zur stärksten durchgeführten Verdünnung von 10 γ.

Aus Gründen, die wir bereits[1] dargelegt haben, wurde der p-Nitro-x-acetamido-zimtaldehyd als auch die entsprechende Dichloracetylverbindung phytochemisch mit gärender Hefe reduziert. Wir hatten damals am Beginn unserer Untersuchungen zur besseren Abtrennung des durch Reduktion erhaltenen Alkohols VI diesen acetyliert und so ein N,O-Diacetat des D,L-3-p-Nitrophenyl-2-aminopropanol-1 V vom Schmp. 161° erhalten, welches mit einem auf anderem Wege[4] hergestellten D,L-3-p-Nitrophenyl-2-acetamido-1-acetoxy-propan identisch war. Aus unerklärlichen Gründen, die uns auch veranlaßten, eine neuerliche Untersuchung vorzunehmen, ergaben dieselben Reduktionsversuche in der Folge immer ein Diacetat vom Schmp. 185°, welches in Methanol und Pyridin keine meßbare optische Aktivität zeigte, so daß wir bei gleicher Bruttozusammensetzung und gestützt durch die Aussagen des Spektroskopikers, der das UR-Spektrum der Diacetate vom Schmp. 161° und 185° nicht Verbindungen vom Verhältnis Racemat-aktive Komponente zuordnete, zur Annahme gelangten, daß das Diacetat vom Schmp. 185° eine ortsisomere Verbindung, und zwar das D,L-3-p-Nitrophenyl-3-acetamido-1-acetoxypropan X sei. Die nunmehr durchgeführten neuen Untersuchungen brachten eine völlige Aufklärung der tatsächlichen Konstitution des Diacetats vom Schmp. 185°. Wird dieses N,O-Diacetat mit 5%iger Salzsäure verseift, so entsteht das Hydrochlorid eines Aminoalkohols V mit dem Schmp. 195°, welches in 0,5 n HCl eine ausgeprägte optische Aktivität, und zwar $[\alpha]_D^{20} = -19 \pm 2°$ zeigte; wir hatten es seinerzeit leider unterlassen, auch dieses Hydrochlorid auf seine optische Aktivität zu prüfen. Das analoge Hydrochlorid des D,L-p-Nitrophenyl-alaninols schmilzt bei 180°[5].

Aus der wäßrigen Lösung des L-3-p-Nitrophenyl-2-aminopropanol-1-hydrochlorids kann durch Versetzen mit verdünntem Ammoniak der freie Aminoalkohol mit dem unscharfen Schmp. 120 bis 123° gefällt

[4] *A. Dornow*, Ber. dtsch. chem. Ges. 84, 307 (1951).

[5] In unserer I. Mitteilung wurde im experimentellen Teile anläßlich der Beschreibung der Verseifung von D,L-N,O-Diacetyl-p-nitrophenyl-alaninol mit Salzsäure das Hydrochlorid vom Schmp. 179 bis 180° mit einem von *Dornow* zur Verfügung gestellten Hydrochlorid des D,L-p-Nitrophenyl-alaninols verglichen. An dieser Stelle ist die versehentliche Bezeichnung „D,L-O,N-Diacetyl-p-nitrophenyl-alaninol von *Dornow*" durch die richtige Bezeichnung „D,L-p-Nitrophenyl-alaninol-hydrochlorid von *Dornow*" zu ersetzen.

werden, der durch Hochvakuumdestillation bis auf 145° erhöht werden konnte. Ein so gereinigtes Präparat zeigt in Methanol eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{22} = -26 \pm 2°$. Es ist bemerkenswert, daß zum Unterschied davon das racemische 3-p-Nitrophenyl-2-aminopropanol-1 vom Schmp. 120° praktisch nicht im Hochvakuum ohne weitgehende Zersetzung destilliert werden kann.

Ob die geringen Bandendifferenzen im UR-Spektrum, welche zwischen racemischem und „optisch aktivem" Diacetat festgestellt wurden, vielleicht vom kristallisierten Zustand der Substanzen herrühren, sollen Aufnahmen, die in Kürze in Lösung gemacht werden, beweisen.

Nun zur Erklärung unserer Befunde: wir hatten bei unseren ersten Gärversuchen eine Hefe verwendet, welche den p-Nitro-α-acetamido-zimtaldehyd II zum racemischen 3-p-Nitrophenyl-2-acetamido-propanol-1 reduzierte, dessen O-Acetat VII den Schmp. 161° besitzt; bei den darauffolgenden phytochemischen Reduktionen erhielten wir aus dem Aldehyd einen gesättigten Alkohol, dessen O-Acetat bei 185° schmolz und welches, wie unsere neuen Versuche zeigten, nach der Verseifung einen Aminoalkohol ergab, der optisch aktiv war. Bei diesen Versuchen hatte also die angewandte Hefe asymmetrisch reduziert, wobei zufälligerweise das aus Gründen der leichteren Abtrennbarkeit hergestellte N,O-Diacetat vom Schmp. 185° keine meßbare optische Aktivität zeigte. Nach einer persönlichen Rückfrage stehen diese Befunde auch in Übereinstimmung mit den Angaben der Fa. Mautner-Markhof, die uns jeweils in dankenswerter Weise die frischen Hefen für unsere Versuche zur Verfügung stellte; danach wurde zum Zeitpunkt unserer Untersuchungen die ursprünglich verwendete Hefe, welche also keine asymmetrische Reduktion bewirkte und die Laborbezeichnung saccharomyces cerevisiae RSTC/Z besaß, ohne daß wir davon Kenntnis gehabt hätten, gegen eine Hefe mit der Bezeichnung sacch. cerev. DÄN. MN. ausgetauscht, welche in der Folge immer nur die optisch aktiven Verbindungen bei der Reduktion lieferte. Soweit in der Übergangszeit ein Gemisch der Bäckereihefen vom Stamm RSTC/Z und DÄN. MN. zur Reduktion verwendet wurden, entstanden natürlich Gemische des Racemats und der optisch aktiven Verbindung.

Die von uns bereits beschriebenen Verbindungen, die also der optisch aktiven Reihe angehören, wollen wir nun mit ihren richtigen Bezeichnungen und Schmelzpunkten nochmals kurz anführen.

L-3-p-Nitrophenyl-2-aminopropanol-1 V vom Schmp. 145° gibt mit Dichloressigsäuremethylester das L-3-p-Nitrophenyl-2-dichloracetamido-propanol-1 (L-Desoxy-chloromycetin) VIII vom Schmp. 148° und $[\alpha]_D^{19} = -10 \pm 2°$. Die biologische Testung an Shigella sonnei, welche Herr Dr. *Eibel* am Serotherapeutischen Institut in Wien durchführte, ergab eine Hemmwirkung gegen diese Mikroben, und zwar eine 50%ige

Hemmung des Wachstums bei 40 γ/ml. Es ist dies im Vergleich zu manchen anderen Abwandlungsprodukten der Chloromycetinmolekel eine verhältnismäßig große Aktivität.

Die Acetylierung von L-Desoxy-chloromycetin mit Essigsäureanhydrid ergab L-3-p-Nitrophenyl-2-dichloracetamido-1-acetoxy-propan IX vom Schmp. 147°. Dieses Derivat eignet sich gut zur Charakterisierung der L-Verbindung des Desoxy-chloromycetins, da das D,L-3-p-Nitrophenyl-2-dichloracetamido-1-acetoxy-propan den Schmp. 135° besitzt. Unser Schmelzpunkt liegt wesentlich höher als der für diese Verbindung in der Literatur[6] angegebene von 110°.

Die Reduktion von α-Dichloracetamido-p-nitrozimtaldehyd III vom Schmp. 175° mit der Hefe RSTC/Z ergab D,L-Desoxy-chloromycetin VIII vom Schmp. 156° (O-Acetat IX Schmp. 135°). Wird die Reduktion mit dem Hefestamm DÄN. MN. vorgenommen, so erhält man L-Desoxy-chloromycetin VIII vom Schmp. 148° (O-Acetat Schmp. 147°).

Biologisch komplexe Systeme, wie sie in Form gärender Hefe zu unseren Reduktionsversuchen verwendet wurden, können zuweilen bei Einhaltung anscheinend völlig gleicher äußerer Bedingungen ein verschiedenes Reaktionsverhalten zeigen. Bei der sehr großen Anzahl durchgeführter phytochemischer Reduktionen konnte durch Verwendung der angeführten Hefestämme das Racemat bzw. die optisch aktive Verbindung isoliert werden; bei einem Versuch jedoch, bei welchem α-Acetamido-p-nitrozimtaldehyd mit der Hefe DÄN. MN. reduziert wurde, konnte nach der Acetylierung des aus der Gärlösung erhaltenen Extrakts neben L-3-p-Nitrophenyl-2-acetamido-1-acetoxy-propan vom Schmp. 185° eine Verbindung vom Schmp. 107 bis 109° abgetrennt werden, welche auf Grund der Elementaranalyse und der Synthese das O-Acetat des p-Nitrophenylacetols ist. Bei einem andereu Versuch, bei welchem L-Dichloracetamido-p-nitrozimtaldehyd mit der Hefe DÄN. MN. vergoren wurde, erhielten wir statt des erwarteten L-Desoxy-chloromycetins die optisch inaktive Verbindung.

Experimenteller Teil.

Thiosemicarbazon des α-Dichloracetamido-p-nitro-zimtaldehyds (IV): 0,101 g α-Dichloracetamido-p-nitro-zimtaldehyd vom Schmp. 175° wurden in Äthanol gelöst und mit einer äthanol. Lösung von 0,032 g Thiosemicarbazid versetzt. Nach dem Einengen fällt das Thiosemicarbazon in kleinen gelben Nadeln, die sich ab 220° verfärben, wobei bis 350° kein eigentliches Schmelzen beobachtet werden kann.

$C_{12}H_{11}O_3N_5Cl_2S$. Ber. C 38,31, H 2,95, Cl 18,85.
Gef. C 37,87, H 3,31, Cl 18,90.

Reduktion von α-Acetamido-p-nitrozimtaldehyd (II) mit der Hefe DÄN.

[6] J. Amer. Chem. Soc. **73**, 3670 (1951).

MN.: Bei einem Reduktionsansatz des Aldehyds II, dessen experimentelle Einzelheiten in der I. Mitt. beschrieben sind, wurde einmal bei der Aufarbeitung des Extraktionsgutes nach seiner Acetylierung mit Acetanhydrid neben L-p-Nitrophenyl-alaninoldiacetat (VII) vom Schmp. 185° aus methanoli Lösung eine in farblosen Schuppen kristallisierende Verbindung vom Schmp. 107° abgetrennt. Die Elementaranalyse ergab Werte, welche in guter Übereinstimmung mit dem Diacetat des p-Nitrozimtaldehyds waren. Diese Verbindung scheint unseres Wissens in der Literatur nicht auf, so daß wir sie aus p-Nitrobenzaldehyd und Acetanhydrid in Gegenwart geringer Mengen konz. Schwefelsäure herstellten. Die Substanz kristallisiert aus Methanol in farblosen Tafeln vom Schmp. 114 bis 115°. Sie ergab im Gemisch mit der Verbindung vom Schmp. 107° eine deutliche Schmp.-Depression.

$C_{13}H_{13}O_6N$. Ber. C 55,91, H 4,69, N 5,02.
Gef. C 56,12, H 4,79.

O-Acetat des p-Nitrophenyl-acetols: Das nach Angaben von *M. Darmon*[7] hergestellte Phenylacetol wurde in der üblichen Weise mit Acetanhydrid acetyliert und das entstandene Phenylacetol-O-acetat aus Methanol umgelöst; Hochvakuumdestillation ergibt eine Substanz vom Schmp. 62—63°.

$C_{11}H_{12}O_3$. Ber. C 68,73, H 6,29.
Gef. C 68,58, H 6,16.

60 mg des Phenylacetol-O-acetats wurden unter Kühlung mit festem Kohlensäure-Alkohol portionenweise in 0,5 ml rauchender HNO_3 (d = 1,52) eingetragen. Die Substanz löste sich sofort auf, worauf der Kolbeninhalt 15 Min. bei Zimmertemp. belassen wurde. Man zersetzte hierauf unter aber maliger äußerer Kühlung mit CO_2-Alkohol durch Eintragen von Eisstückchen in das Nitriergemisch. Nach kurzer Zeit schieden sich Kristalle ab, welche abgesaugt wurden. Die Mutterlauge wurde mit $NaHCO_3$ neutralisiert, mit Essigester ausgeschüttelt, getrocknet, abgedampft und der Rückstand im Ölvak. destilliert. Das bei 110° Luftbadtemp. übergehende O-Acetat des p-Nitrophenylacetols wurde mit den zuerst abgesaugten Kristallen vereint und mehrmals aus Methanol umgelöst. Schmp. 107—109°. Im Gemisch mit der bei der Hefehydrierung der Substanz II anfallenden Verbindung vom Schmp. 107° trat keine Schmelzpunktsdepression auf.

$C_{11}H_{14}O_5N$. Ber. C 55,69, H 4,67, N 5,91
Gef. C 56,02, H 5,06, N 6,10
Verbindung Schmp. 107° aus Hefehydrierung: Gef. C 56,15, H 4,86, N 6,2.

D-Tartrat des L-p-Nitrophenyl-alaninols: L-3-p-Nitrophenyl-2-aminopropanol-1 (V) gibt mit D-Weinsäure ein ausgezeichnet kristallisierendes neutrales Salz, welches in Äthanol schwer löslich und zur Charakterisierung als auch zur Reinigung des Aminoalkohols V hervorragend geeignet ist. 0,1 g Aminoalkohol V wurden in 30 ml Äthanol gelöst und mit 0,071 g D-Weinsäure in 35 ml Äthanol versetzt. Umlösen des Tartrats aus Äthanol ergibt weiße prächtige Nadeln vom Schmp. 192 bis 193° (u. Zers.).

$C_{22}H_{30}O_{12}N_4$. Ber. C 48,70, H 5,57. Gef. C 48,57, H 5,63.

D,L-3-p-Nitrophenyl-2-dichloracetamido-1-acetoxy-propan IX: 0,037 g D,L-Desoxy-chloromycetin vom Schmp. 156° wurden in 1 ml Acetanhydrid gelöst, 15 Min. am siedenden Wasserbad erwärmt und über Nacht stehen

[7] C. r. acad. sci., Paris **197**, 1328 (1933).

gelassen. Nach dem Eindampfen im Vak. und Umlösen aus Methanol zeigte die Verbindung den Schmp. 133 bis 134°. Ausbeute quantitativ.

$C_{13}H_{14}O_5N_2Cl_2$. Ber. C 44,72, H 4,04, N 8,02.
Gef. C 44,70, H 4,06, N 8,15.

L-3-p-Nitrophenyl-2-dichloracetamido-1-acetoxy-propan IX: Wird L-Desoxy-chloromycetin vom Schmp. 148°, $[\alpha]_D^{19} = -10 \pm 2°$, in gleicher Weise wie bei der D,L-Verbindung beschrieben acetyliert, so erhält man das O-Acetat vom Schmp. 147°. Die Acetylierungen dürfen nicht in Gegenwart von Pyridin durchgeführt werden.

$C_{13}H_{14}O_5N_2Cl_2$. Ber. C 44,72, H 4,04. Gef. C 45,09, H 4,36.

Biologische Testung des Thiosemicarbazons des α-Dichloracetamido-p-nitro-zimtaldehyds IV: Die Urethan-Wasser-Lösung des Thiosemicarbazons wurde in den Konzentrationen 10, 100, 250 und 1000 γ einem *Löwenstein*-Eiernährboden zugesetzt. Dabei kam es bei den Konzentrationen 1000 und 500 γ zu einer Ausfällung der gelösten Substanz, während bei den niedrigeren Konzentrationen dies nicht der Fall war. Die Nährböden wurden mit dem Tuberkelbakterienstamm 167 beimpft. Die Ablesungen nach Bebrütung erfolgten am 16., 26., 33. und 45. Tag. Auch bei der letzten Ablesung wurde in sämtlichen mit dem Thiosemicarbazon versetzten Nährböden bis zur stärksten durchgeführten Verdünnung von 10 γ kein Wachstum von Tuberkelbazillen festgestellt, während bei den angelegten Kontrollen bei der Ablesung am 16. Tag bereits deutliches Wachstum von Tuberkelbazillen zu sehen war.

Die Mikroanalysen wurden von Herrn Dr. *G. Kainz* im Mikroanalytischen Laboratorium des II. Chemischen Institutes ausgeführt.

Über das 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian*.

III. Mitteilung über α-Ketomercaptane.

Von

O. Hromatka und R. Haberl.

Aus dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

Mit 4 Abbildungen.

(Eingelangt am 22. April 1954.)

In Fortsetzung früherer Untersuchungen wurde 3-Mercaptobutanon-(2) hergestellt und seine Umsetzung zu 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian beschrieben. Wie sich aus dem Auftreten von zwei verschiedenen Bis-dioxyden ergibt, kommt letztere Verbindung in mehreren Isomeren vor. Die sterischen Verhältnisse werden an Hand von Atommodellen und mittels UR-Spektren diskutiert.

Seit der II. Mitteilung dieser Reihe[1], in der für das unter Abspaltun von Wasser aus dem Acetonylmercaptan entstandene Reaktionsprodu die Konstitution eines 2,5-Dimethyl-2,5-endoxy-1,4-dithians bewiese wurde, ist eine Reihe von Veröffentlichungen[2–9] erschienen, die zeige daß dieses ursprünglich etwas abseitig erscheinende Arbeitsgebiet doc ein viel allgemeineres Interesse findet. Auch wir haben die vor 19 entstandenen und 1947 publizierten Arbeiten nach langer Unterbrechun

* Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zum 60. Geburtstag in Verehrung gewidme

[1] *O. Hromatka* und *E. Engel*, Mh. Chem. **78**, 38 (1947).

[2] *G. Hesse* und *I. Joerder*, Ber. dtsch. chem. Ges. **85**, 924 (1952).

[3] *L. Schotte*, Ark. Kemi **3**, 397 (1951); Chem. Abstr. **46**, 6595 (1952).

[4] *L. Schotte*, Ark. Kemi **3**, 397 (1951); Chem. Abstr. **46**, 6595 (1952).

[5] *G. Jacini, T. Bacchetti* und *L. Rosnati*, Gazz. chim. ital. **82**, 297 (1952

[6] *T. Bacchetti* und *A. Sartori*, Gazz. chim. ital. **83**, 655 (1953).

[7] *T. Bacchetti, G. Jacini* und *A. Fiecchi*, Gazz. chim. ital. **83**, 823 (1953

[8] *T. Bacchetti, A. Sartori* und *A. Fiecchi*, Gazz. chim. ital. **83**, 1031 (1953

[9] *T. Bacchetti* und *A. Fiecchi*, Gazz. chim. ital. **83**, 1037 (1953).

im Februar 1952 wieder aufgenommen[10] und wollen nun über die wesentlichen Ergebnisse berichten.

Das erste Ziel dieser Arbeiten war, den durch 4 Methylgruppen substituierten 2,5-Endoxy-1,4-dithianring aufzubauen. Als Ausgangsmaterial diente 3-Chlor-butanon-(2), das nach der von *Forster* und *Fierz*[11] modifizierten Vorschrift von *Kling*[12] hergestellt worden war. Die Umsetzung dieser Verbindung mit einer wäßrigen Lösung von Natriumhydrogensulfid bei 0° lieferte 3-Mercapto-butanon-(2). Diese Verbindung ist ein Öl vom $Sdp._{10}$ 39° und unterscheidet sich daher wesentlich vom kristallisierten Acetonylmercaptan. Für letzteres hat *Hromatka*[13] die monomere Form ausgeschlossen und *Schotte*[3] konnte durch Bestimmung des Molgewichtes die dimere Form beweisen.

An dieser Stelle sei erwähnt, daß wir die Angaben von *Schotte*, daß das Acetonylmercaptan in 2 polymorphen Formen der Schmp. 82° und 109 bis 111° vorliegt, noch mit großer Vorsicht betrachten. Die Bildung des 2,5-Dimethyl-2,5-endoxy-1,4-dithians erfolgt durch Erwärmen so leicht, daß es uns sehr schwierig erscheint, durch Umkristallisieren aus Benzol oder durch längeres Erwärmen reine Schmelzpunkte zu erreichen. Es ist demnach möglich, daß der von *Groth* in seiner den Autoren leider nicht zugänglichen Dissertation[14] angegebene Schmp. 82° sich auf eine noch unreine Verbindung bezieht.

Die zitierten Arbeiten von *Bacchetti* und Mitarbeitern über höhere Homologe der α-Mercaptoketone zeigen, welche Schwierigkeiten es bereitet, diesen äußerst reaktionsfähigen Verbindungen bestimmte Konstitutionsformeln zuzuordnen.

Im 3-Mercapto-butanon-(2) wurde die SH-Gruppe durch Bildung einer Bleiverbindung und durch Reaktion mit p-Nitrobenzoylchlorid bewiesen. Mit Phenylhydrazin entsteht das Phenylosazon des Diacetyls. Die Gruppierung —CO—CH(SH)— verhält sich demnach wie ein Ketol.

Neben 3-Mercapto-butanon-(2) war auch Bis-(butanon-2-yl-3)-sulfid entstanden, das durch ein Bis-4-phenylsemicarbazon charakterisiert wurde. Die Bildung des Thioäthers neben dem Mercaptan ist bei Umsetzungen von Halogeniden mit NaSH immer zu erwarten. *Ellis* und *Reid*[15] und *Wagner-Jauregg* und *Lennartz*[16] weisen sogar darauf hin, daß bei höheren Alkylbromiden die Sulfidbildung mit NaSH zur Haupt-

---

[10] *R. Haberl*, Dissertation Universität Wien (1953).
[11] *M. O. Forster* und *H. E. Fierz*, J. Chem. Soc. London **93**, 675 (1908).
[12] *A. Kling*, C. r. acad. sci., Paris **140**, 313 (1905).
[13] *O. Hromatka* und *E. Engel*, Mh. Chem. **78**, 29 (1947).
[14] *B. Groth*, Dissertation Universität Uppsala (1926).
[15] *L. M. Ellis* und *E. E. Reid*, J. Amer. Chem. Soc. **54**, 1674 (1932).
[16] *Th. Wagner-Jauregg* und *Th. Lennartz*, Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 27 (1941).

reaktion wird und Mercaptane überhaupt nur in wasserfreiem Lösungsmittel gewonnen werden können. Demgegenüber ist unsere Mercaptanausbeute in wäßrigem NaSH bemerkenswert.

Bei der Umsetzung von 3-Chlorbutanon-(2) mit Natriumsulfid entsteht der Thioäther bevorzugt, aber als Nebenprodukt wurden 10,2% 3-Mercapto-butanon-(2) erhalten.

Bereits bei längerem Stehen, viel rascher durch Erwärmen, geht 3-Mercapto-butanon-(2) unter Wasserabspaltung in 2,3,5,6-Tetramethyl-

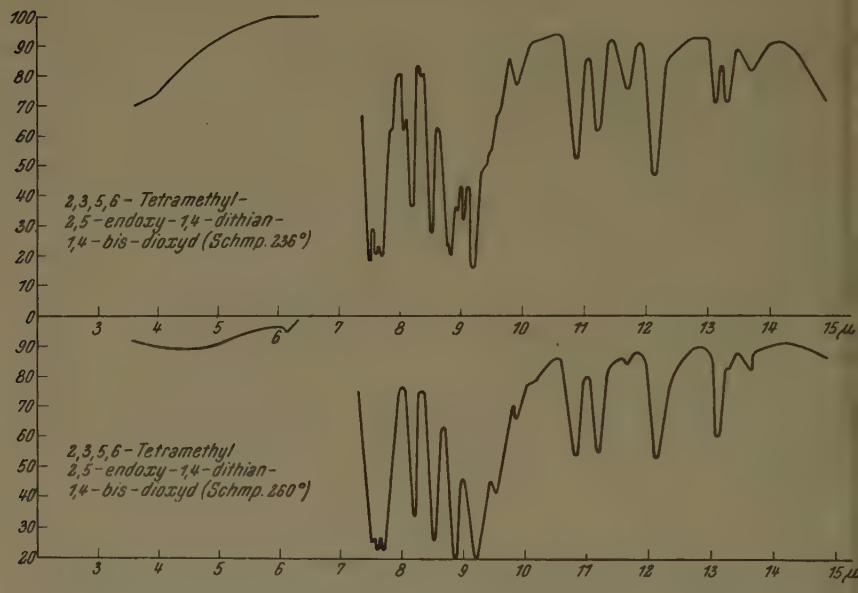


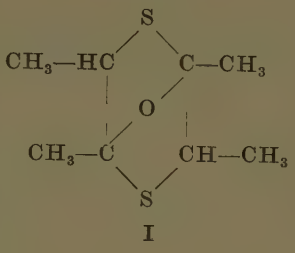
Abb. 1.

2,5-endoxy-1,4-dithian (I) vom Schmp. 19,5° über. Durch Oxydation einer wäßrigen Emulsion mit der berechneten Menge $KMnO_4$ wurde das 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian-1-dioxyd erhalten. Nach oftmaligem Umkristallisieren war der Schmp. noch nicht ganz scharf bei 114 bis 116°. Wir erklärten die Schwierigkeit der Reinigung zunächst mit der Gegenwart des 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian-1,4-bisdioxyds, das als Nebenprodukt isoliert wurde.

Bei der Oxydation von I mit der für die Bildung von 2 Sulfongruppen berechneten Permanganatmenge wurden jedoch zwei Produkte mit der Summenformel des 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian-1,4-bisdioxyds erhalten: eines durch Extraktion des Rohproduktes mit Alkohol, das bei 236° schmolz, eines durch Extraktion mit Benzol vom Schmp. 260°. Beide ließen sich ohne Änderung ihrer Schmp. sublimieren und gaben in

Mischung Schmelzpunktsdepression. Auch bei der Permanganatoxydation in Eisessig wurden beide Disulfone — und zwar in besserer Ausbeute von zusammen 65% — erhalten.

Die UR-Spektren der bei 236 und 260° schmelzenden Verbindungen (Abb. 1) wurden mit dem Spektrum des 2,5-Dimethyl-2,5-endoxy-1,4-dithians-1,4-bis-dioxyds (Abbildung 2), dessen Konstitution durch eindeutige Abbaureaktionen festliegt, verglichen.



I

Bei allen drei Verbindungen waren starke Banden um 7,6 μ und 8,9 μ vorhanden. Beim Dimethylprodukt fällt letztere knapp neben die Ätherbande. Die Spektren der Verbindungen der Schmp. 236 und 260° sind einander so ähnlich, daß ihre enge Verwandtschaft erwiesen erscheint. Die

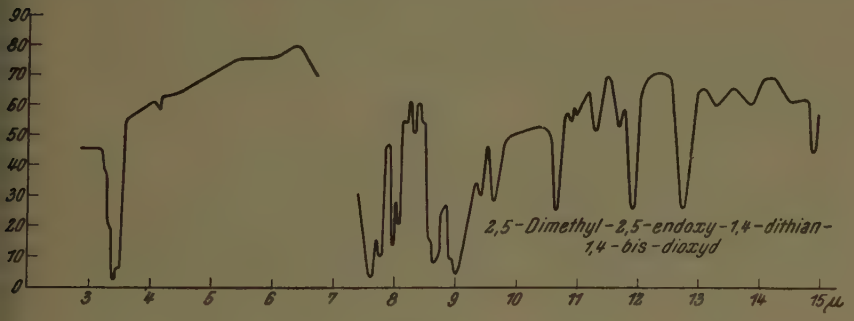


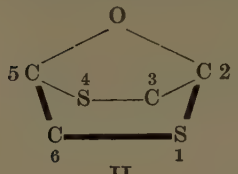
Abb. 2.

Verbindungen sind frequenzmäßig als Isomere anzusprechen, da die Maxima beider Spektren gleiche Frequenzlagen bei stellenweisen Intensitätsunterschieden zeigen. Als Unterschiede seien nur folgende erwähnt: Die Verbindung vom Schmp. 236° besitzt zusätzlich eine schwache Bande bei 8,1 μ und eine mittelstarke bei 13,35 μ. Die bei 260° schmelzende Verbindung dagegen zeigt zusätzlich eine schwache Bande bei 9,55 μ. Die Bande bei 11,7 μ ist bei der Verbindung vom Schmp. 236° mittelstark, bei der Verbindung vom Schmp. 260° sehr schwach ausgebildet.

Die Ergebnisse lassen darauf schließen, daß die verschieden schmelzenden Verbindungen stereoisomere 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian-1,4-bis-dioxyde sind.

Es war daher zu vermuten, daß auch das Endoxydithian I eine bisher nicht trennbare Mischung stereoisomerer Formen darstellt. Modellbetrachtungen am nicht substituierten Ringsystem zeigen, daß die Sauerstoffbrücke nur in cis-Verknüpfung aus einer Wannenform des Dithianringes möglich ist. Man hat also ein ähnliches Modell (II) in Körbchenform zu wählen wie für den Campher. Eine Bildung der Sauerstoffbrücke aus

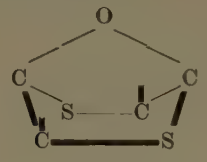
der Sesselform des Dithianringes scheint nicht möglich. Substitution durch Alkylgruppen an den C-Atomen 2 und 5 kann keinen Anlaß zur Bildung Isomerer geben. Dementsprechend ist das 2,5-Dimethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian eine einheitliche Verbindung. Auch das Monosulfon und das Disulfon dieser Verbindung sind nach Modellbetrachtungen einheitlich.



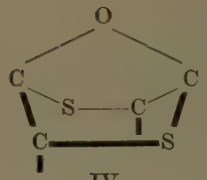
II

Anders verhält sich das 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian. Die beiden Methylgruppen in den Stellungen 2 und 5 sind für die Stereoisomerie belanglos. Maßgebend sind die Methylgruppen an den C-Atomen 3 und 6, die entsprechend den Formeln III bis VI unterschiedliche Lagen in bezug auf die Sauerstoffbrücke einnehmen können.

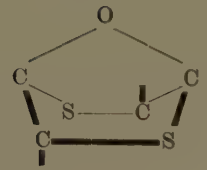
Da die Verbindungen V und VI identisch sind, sind 3 Isomere möglich. Beim 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian-1-dioxyd ist die Gleichwertigkeit der Methylgruppen an den Kohlenstoffatomen 3 und 6 aufgehoben und daher sind 4 Stereoisomere denkbar; beim 1,4-Bisdioxyd dagegen wieder drei.



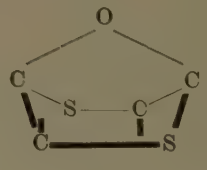
III



IV



V



VI

Wir haben große Mühe darauf verwendet, die Verbindung I in Isomere aufzutrennen. Chromatographische Adsorption an Al_2O_3 war erfolglos. Die Papierchromatographie bot wegen der Lipoidlöslichkeit der Verbindung zwar Schwierigkeiten, scheiterte aber an ihrer campherartigen hohen Flüchtigkeit.

Wir hatten daher die Absicht, I mit Methyljodid in ein wasserlösliches und nicht flüchtiges Sulfoniumjodid zu verwandeln und dieses papierchromatographisch zu trennen. Als Reaktionsprodukt konnte aber nur Trimethylsulfoniumjodid gefaßt werden. Ähnliche Reaktionen, die in einer weiteren Umlagerung primär gebildeter Sulfoniumsalze bestehen, sind in der Literatur bekannt.

Bei monatelangem Stehen von Verbindung I kristallisierte jedoch ein Anteil der bei Raumtemperatur öligen Verbindung; dieser wurde vom restlichen Öl abgetrennt und bis zum Schmp. 28° gereinigt.

Die Verbindung gab bei der Permanganatoxydation das bei 236° schmelzende Disulfon in sofort reiner Form. Wir vermuten daher, daß

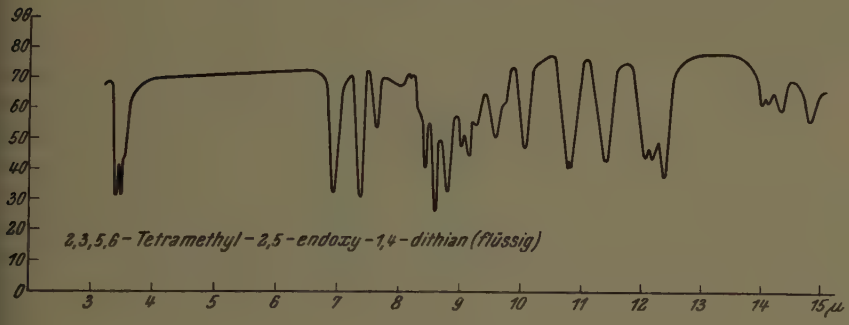


Abb. 3.

die bei 28° schmelzende Verbindung ein reines Isomeres ist. Dagegen gelang es bisher nicht, die anderen theoretisch möglichen zu isolieren.

Eine weitere Stütze erhält diese Annahme durch Vergleich des UR-Spektrums der ursprünglichen Verbindung I (Schmp. 19,5°) (Abb. 3) mit dem des 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithians (Schmp. 28°) (Abb. 4).

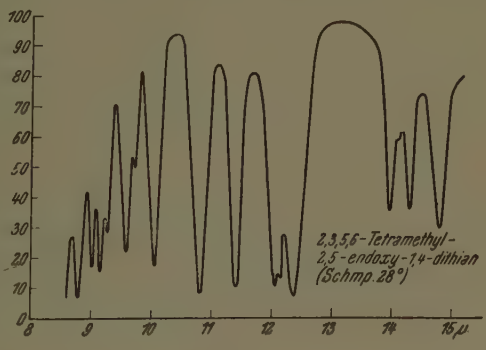


Abb. 4.

Zur Aufnahme der Spektren lagen beide Verbindungen in flüssiger Form vor. Es zeigen sich dabei fast dieselben Banden ohne merkbare Frequenzverschiebungen. Die C—S—C-Gruppierung kann durch keine auffallende Bande charakterisiert werden; die C—O—C-Gruppierung ist dagegen in der stärkeren Bandengruppe zwischen 8 und 9 μ enthalten.

Der Unterschied der Spektren liegt nur darin, daß 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian (Schmp. 28°) die Bande bei 12,15 μ nur noch als schwaches Maximum und die Bande bei 14,1 μ nur noch als Schulter zeigt.

Aus dem Vergleich der beiden Spektren kann der Schluß gezogen werden, daß es sich beim 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian (Schmp. 28°) um eines der Isomeren in weitgehend reiner Form handelt, während Verbindung I ein Isomerengemisch darstellt.

Die obigen Spektren lassen leider keine Schlüsse auf die räumliche Anordnung der Methylgruppen zu, doch fassen wir ihre Veröffentlichung als Beitrag zur Klärung des sterischen Aufbaues dieses Ringsystems auf, den wir hiermit zur Diskussion stellen. Eine weitere präparative Bearbeitung dieses Gebietes, verbunden mit einer Bereicherung der UR-Spektren schwefelhaltiger Ringsysteme, läßt jedoch eine Klärung der Isomerieverhältnisse dieser Verbindungsklasse erhoffen.

Experimenteller Teil.

3-Mercapto-butanon-(2).

In eine Lösung von 28 g NaOH in 280 ml Wasser wurde unter Eiskühlung 1 Äquival. H_2S eingeleitet. Die erhaltene Lösung von Natriumhydrogensulfid wurde bei 0° tropfenweise unter starkem mechanischem Rühren im Laufe von $^1/_2$ Std. mit 68,0 g 3-Chlorbutanon-(2) versetzt. Das Rühren wurde eine weitere $^1/_2$ Std. fortgesetzt. Das ausgeschiedene hellgelbe Öl wurde mit 3mal 50 ml Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit Na_2SO_4 getrocknet, im Vak. eingedampft und der Rückstand bei 8 Torr fraktioniert.

1. Fraktion: 39°, 3-Mercapto-butanon-(2). Ausbeute 36,8 g (50,5% d. Th.).
2. Fraktion: 39 bis 111°, 3,9 g.
3. Fraktion: 111 bis 128°, 6,5 g Bis-(butanon-2-yl-3)-sulfid.

Das 3-Mercapto-butanon-(2) trübt sich schon nach kurzem Aufbewahren; innerhalb 5 Stdn. bei Raumtemp. bilden sich Wassertropfen. Die Verbindung ist schwl. in Wasser, ll. in Alkohol, Äther, Pyridin und wäßrigen Laugen.

Bleiverbindung: 8,0 g 3-Mercapto-butanon-(2) in 150 ml Alkohol mit einer 20%igen wäßr. Lösung von 50,0 g Bleiacetat versetzt. Nach einigen Stdn. wurde der Niederschlag — 13,4 g — abgesaugt und aus Alkohol umkristallisiert. Glänzende Plättchen, Zersp. 191°. Zur Analyse bei 10 Torr und Raumtemp. über P_2O_5 getrocknet. Trocknen bei 0,2 Torr und erhöhter Temp. von 56 oder 100° führt zur Zersetzung.

Gef. C 13,34, 13,50, H 1,70, 1,57.

S-p-Nitrobenzoylverbindung: 1,0 g 3-Mercapto-butanon-(2) in 5 ml wasserfreiem Pyridin mit 3,6 g p-Nitrobenzoylchlorid kurz erwärmt und 2 Stdn. stehen gelassen. Mit Wasser versetzt und 3mal mit je 25 ml Äther ausgeschüttelt. Ätherlösung von p-Nitrobenzoesäureanhydrid abfiltriert und mit verd. Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Rückstand kristallisiert aus Alkohol, hellgelbe Kristalle. Ausbeute 1,0 g (41,2% d. Th.). Zersp. 64°.

Zur Analyse bei 35° und 0,2 Torr über P_2O_5 getrocknet.

$C_{11}H_{11}O_4NS$. Ber. C 52,16, H 4,38, S 12,66, N 5,53.
Gef. C 52,08, 52,13, H 4,15, 4,20, S 12,62, 12,53, N 5,74, 5,62.

Bis-(butanon-2-yl-3)-sulfid.

a) Reinigung des Nebenproduktes von 3-Mercapto-butanon-(2). Fraktion vom $Sdp._8$ 111 bis 128° in wenig Äther gelöst, mit 20 ml Wasser geschüttelt und mit einigen Tropfen 1 n NaOH bis zur bleibenden phenolphthaleinalkalischen Reaktion versetzt. Ätherlösung über K_2CO_3 getrocknet, einge-

dampft. Rückstand hellgelbes Öl vom $Sdp._{11}$ 123°. Ll. in Alkohol und Äther, schwl. in Petroläther. Ätherlösung gibt beim Kühlen mit Kohlensäureschnee-Methanol Kristalle, die anschließend im Kugelrohr bei 0,2 Torr und 80° Luftbadtemp. destilliert wurden. Farbloses Öl, Schmp. 2°.

$C_8H_{14}O_2S$. Ber. S 18,40. Gef. S 18,57, 18,80.

b) Herstellung aus 3-Chlor-butanon-(2) und Natriumsulfid. 40,0 g $Na_2S \cdot 9\,H_2O$ in 100 ml Wasser wurden auf 0° gekühlt und unter starkem Rühren und Kühlen langsam mit 30,0 g 3-Chlor-butanon-(2) versetzt. Nach weiteren 20 Min. Rühren wurde 2mal mit je 30 ml Äther ausgeschüttelt, die Ätherauszüge über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde bei 9 Torr fraktioniert.

Fraktion 1: Sdp. 37 bis 39°, 3,0 g (10,2% d. Th.) 3-Mercapto-butanon-(2), identifiziert als S-p-Nitrobenzoylverbindung.

Fraktion 2: Sdp. 39 bis 120°, 1,6 g.

Fraktion 3: Sdp. 120 bis 126°, 7,2 g (29,4% d. Th.) Bis-butanon-2-yl-3)-sulfid. Nochmals bei 126°/10 Torr destilliert.

4-Phenylsemicarbazon: 1,0 g Bis-(butanon-2-yl-3)-sulfid in 5 ml Alkohol mit 3,2 g 4-Phenylsemicarbazid · HCl in wenig Wasser versetzt. Die sofortige Fällung durch mehrstündiges Stehen vervollständigt, hierauf mit wäßr. Natriumacetatlösung versetzt und noch 2 Stdn. stehen gelassen. Ausbeute 2,4 g (93,8% d. Th.). Aus Pyridin umkristallisiert und mit Alkohol gewaschen. Farblose Kristalle, Zersp. 233°.

Zur Analyse bei 56° und 0,2 Torr über P_2O_5 getrocknet.

$C_{22}H_{28}O_2N_6S$. Ber. C 59,97, H 6,40, S 7,28, N 19,08.
Gef. C 60,13, 60,40, H 6,16, 6,17, S 7,26, 7,40, N 19,35.

Umsetzung von 3-Mercapto-butanon-(2) mit Phenylhydrazinacetat.

2,0 g 3-Mercapto-butanon-(2) in 10 ml Alkohol wurden mit 4,0 g Phenylhydrazin in 10 ml 50%iger Essigsäure 3 Stdn. unter Rückfluß gekocht. 0,4 g Kristalle wurden aus Essigester umkristallisiert. Zersp. 253°. Mischschmp. mit dem Phenylosazon des Diacetyls gab keine Depression.

$C_{16}H_{18}N_4$. Ber. C 72,15, H 6,81. Gef. C 72,16, H 6,59.

2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian.

55,3 g 3-Mercapto-butanon-(2) wurden im offenen Rundkolben 8 Stdn. am Wasserbad erhitzt, anschließend in wenig Äther gelöst, mit Na_2SO_4 getrocknet und im Vak. von 8 Torr fraktioniert.

Fraktion 1: Sdp. 37 bis 95°, 15 g einer Mischung von unverändertem 3-Mercapto-butanon-(2) und 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian.

Fraktion 2: Sdp. 95 bis 96°, 26,4 g (50,5% d. Th.) 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian.

Fraktion 3: Sdp. 96 bis 115°, 4,7 g.

Rückstand: Dunkles Öl, das bei Ölbadtemp. 190° nicht destillierte.

Fraktion 2 ist ein schwachgelbes Öl, das im 4fachen Volumen absol. Methanol gelöst, durch Kühlung mit CO_2-Aceton kristallisierte und im Kugelrohr im Vak. destilliert wurde. Schmp. 19,5°. Campherähnlicher Geruch. Ll. in Methanol, Äthanol, Äther und Aceton, schwl. in Wasser.

$C_8H_{14}OS_2$. Ber. C 50,48, H 7,42, S 33,69.
Gef. C 50,50, 50,45, H 7,31, 7,30, S 34,07, 33,93.

Aus dem Öl schieden sich nach mehrmonatlichem Stehen bei Raumtemp. Kristalle ab, die aus Ätherlösung mit CO_2-Aceton kristallisierten. Schmp. 28°.

Trimethylsulfoniumjodid.

3,0 g 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian mit 12,0 g Methyljodid im Bombenrohr 3 Stdn. im siedenden Wasserbad erhitzt. 10 Stdn. stehen gelassen, abgesaugt und mit wenig Alkohol gewaschen. 1,2 g (18,6% d. Th.). Zersp. 115° aus Äthanol.

C_3H_9SJ. Ber. S 15,71, J 62,19. Gef. S 15,59, J 62,12.

2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian-1-dioxyd.

26,4 g 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian wurden durch starkes Rühren in 300 ml Wasser emulgiert, auf 0° gekühlt und bei dieser Temperatur mit einer Lösung von 29,0 g $KMnO_4$ in 750 ml Wasser im Laufe von 3 Stdn. versetzt. Das Rühren wurde $^1/_2$ Std. fortgesetzt, Mangan(IV)-oxydhydrat durch gelindes Erwärmen in eine leichter filtrierbare Form überführt und abgesaugt. Das wäßr. Filtrat wurde 3mal mit je 100 ml Äther ausgeschüttelt, der Ätherauszug mit Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Aus dem öligen Rückstand schieden sich mit Petroläther farblose Kristalle ab. Ausbeute 2,6 g (8,35% d. Th.). Aus Benzin Sdp. 100 bis 120° umkristallisiert, Schmp. 114 bis 116°.

Zur Analyse bei 0,2 Torr und einer Luftbadtemp. von 80 bis 90° im Kugelrohr sublimiert.

$C_8H_{14}O_3S_2$. Ber. C 43,22, H 6,35, S 28,84. Gef. C 42,68, H 6,29, S 28,46.

Die Petroläther-Mutterlaugen hinterließen ein Öl, aus dem 11,2 g unverändertes 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian gewonnen wurden.

Das Mangan(IV)-oxyhydrat wurde mit schwefliger Säure gelöst. Ungelöste, farblose Kristalle wurden abgesaugt, mit Alkohol gewaschen und getrocknet. 1,5 g; aus Benzol umkristallisiert Schmp. 260°, also eines der später beschriebenen 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian-1,4-bis-dioxyde.

2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian-1,4-bis-dioxyd.

a) Oxydation in wäßriger Emulsion. 10,0 g 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian in 100 ml Wasser wie oben beschrieben mit einer Lösung von 22,0 g $KMnO_4$ in 600 ml Wasser oxydiert. Der abgesaugte Braunstein wurde in Wasser suspendiert und durch Einleiten von SO_2 gelöst. Farblose, durch öliges Ausgangsmaterial verunreinigte Kristalle abgesaugt und mit Alkohol gewaschen. Ausbeute zirka 5 g, in zwei gleichen Teilen getrennt aufgearbeitet.

Teil 1 mit 100 ml Alkohol rückflußgekocht und durch Heißwassertrichter filtriert. 0,9 g (6,8% d. Th.) farblose Kristalle, nochmals aus Alkohol umkristallisiert, Schmp. 236°. Umkristallisieren aus Benzol veränderte den Schmp. nicht.

Teil 2 wurde mit 100 ml Benzol unter Rückfluß gekocht und durch Heißwassertrichter filtriert. 0,8 g (6% d. Th.) farblose Kristalle, nach wiederholtem Umkristallisieren aus Benzol Schmp. 260°. Umkristallisieren aus Alkohol verändert den Schmp. nicht. Die Verbindung vom Schmp. 236° zur Analyse bei 0,001 Torr und Luftbadtemp. 180 bis 185° im Kugelrohr sublimiert.

$C_8H_{14}O_5S_2$. Ber. C 37,78, H 5,50, S 25,21.
Gef. C 37,95, 37,75, H 5,72, 5,67, S 24,97, 24,91.

Die Verbindung vom Schmp. 260° wurde zur Analyse bei 80° und 0,2 Torr über P_2O_5 getrocknet.

$C_8H_{14}O_5S_2$. Ber. C 37,78, H 5,50, S 25,21.
Gef. C 37,62, 37,82, H 5,56, 5,76, S 25,10, 25,22.

b) Oxydation in Eisessig. 10,0 g 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian in 80 ml Eisessig unter starkem mechanischen Rühren und Wasserkühlung während 2 Stdn. mit 22,0 g feingepulvertem $KMnO_4$ versetzt. Eisessig im Vak. abdestilliert, Rückstand mit 50 ml Wasser aufgenommen und SO_2 bis zur Entfärbung eingeleitet. Die abgeschiedenen farblosen Kristalle abgesaugt und mit Wasser und Alkohol gewaschen. 8,7 g (65% d. Th.).

Den Herren *H. Tschamler*, *R. Leutner* und *F. Grass* sind wir für die Aufnahmen der UR-Spektren und deren Auswertung zu Dank verpflichtet.

Sämtliche Analysen wurden von den Herren Dr. *H. Wagner* und Dr. *W. Padowetz* im Mikroanalytischen Laboratorium des I. Chemischen Universitätslaboratoriums ausgeführt.

Die Konzentration der Pyridinnucleotide in verschiedenen Organen des gesunden Meerschweinchens[1].

Von

O. Gabriel, O. F. Schwarz und **O. Hoffmann-Ostenhof.**

Aus dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 5. Mai 1954.)

Mit der Absicht, die erhaltenen Werte als Grundlage für spätere Untersuchungen über Veränderungen unter pathologischen Bedingungen zu benützen, wurde es unternommen, den Gehalt an oxydierten und reduzierten Pyridinnucleotiden in Leber, Niere, Herz und Hirn normaler Meerschweinchen zu bestimmen.

Einleitung.

Die Funktion der Pyridinnucleotide (PN) als wichtige Teilkatalysatoren der biologischen Oxydationsmechanismen ist wohlbekannt[2]. Es erschien uns deshalb lohnend, die Veränderungen der Konzentration dieser enzymatischen Komplemente[3] und auch des Verhältnisses zwischen reduzierten und oxydierten PN im Tierorganismus unter dem Einfluß verschiedener pathologischer Veränderungen zu studieren.

Leider sind die verschiedenen, in der Literatur zu findenden Angaben über die Konzentration der PN und auch insbesondere über das Verhältnis der reduzierten und oxydierten Formen der PN nicht sehr umfassend und divergieren manchmal beträchtlich, was vermutlich sowohl auf die häufig nicht sehr schonende Art der Extraktion und auch auf die Verschiedenheit der Methoden zurückzuführen ist. Aus diesem Grunde sahen wir uns veranlaßt, eigene Messungen der Konzentrationen dieser Substanzen und dem Verhältnis zwischen oxydierten und reduzierten PN in verschiedenen Organen des gesunden Meerschweinchens

[1] Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zum 60. Geburtstag gewidmet.

[2] Vgl. z. B. *F. Schlenk* in „The Enzymes", herausgegeben von *J. B. Sumner* und *K. Myrbäck*, Bd. II/1, S. 250. New York. 1951.

[3] *L. Michaelis*, ibid., Bd. II/1, S. 1. — Vgl. auch *O. Hoffmann-Ostenhof*, Adv. Enzymology **14**, 219 (1953).

vorzunehmen, um auf diese Weise eine Grundlage für unsere späteren Untersuchungen zu gewinnen.

Zur Bestimmung der Pyridinnucleotide gibt es einerseits biologische Methoden, wie z. B. den „Gärtest“[4], und anderseits physikalisch-chemische Methoden, von welchen die Spektrophotometrie wohl die wichtigste ist. Während die biologischen Methoden eine leichtere Unterscheidung zwischen Diphosphopyridinnucleotid (DPN) und Triphosphopyridinnucleotid (TPN) erlauben, dürfte in bezug auf die Genauigkeit der Analyse die Spektrophotometrie überlegen sein. Da wir nicht annehmen, daß für unsere Fragestellungen eine Unterscheidung zwischen DPN und TPN von großer Bedeutung sein wird, verwendeten wir eine spektrophotometrische Arbeitsweise, welche im wesentlichen der von *Feigelson* und Mitarbeitern[5] ausgearbeiteten Methode entspricht. Diese gestattet in verhältnismäßig einfacher Weise, außer der Gesamtkonzentration der PN auch den Anteil der reduzierten und oxydierten Formen dieser Stoffe zu bestimmen.

Methodik.

Die Bestimmungsmethode von *Feigelson* und Mitarbeitern[5] beruht im wesentlichen darauf, daß das biologische Material unter möglichst schonenden Bedingungen mit Trichloressigsäure extrahiert wird, wobei die Pyridinnucleotide in Lösung gehen. Aus der Lösung werden die Substanzen dann an einer Kolonne von Aktivkohle einer bestimmten Korngröße *(Nuchar C)* selektiv adsorbiert, in der Folge mit Pyridin eluiert und nach Reduktion zu den entsprechenden Dihydroformen (DPN · H_2 und TPN · H_2) spektrophotometrisch durch Messung bei 3400 Å (Absorptionsmaximum der reduzierten Pyridinnucleotide) bestimmt. Auf diese Weise werden nur die oxydierten Pyridinnucleotide erfaßt, da die reduzierten Formen dieser Stoffe sehr säurelabil sind und deshalb bei der Extraktion zerstört werden. Wenn man hingegen dafür sorgt, daß bei der Extraktion die reduzierten Formen der Pyridinnucleotide oxydiert und damit in die säurestabile Form überführt werden, so erhält man bei der analog durchgeführten Messung Werte, welche der Gesamtkonzentration der Pyridinnucleotide, das heißt der Summe an oxydierten und reduzierten Pyridinnucleotiden, entspricht. Durch Subtraktion der Werte für die oxydierten Formen von den Werten der Gesamtkonzentration läßt sich die Konzentration der reduzierten Formen der Pyridinnucleotide berechnen.

Praktisch gingen wir derart vor, daß wir Meerschweinchen mit einem Durchschnittsgewicht von 300 g durch Genickschlag töteten, die Organe, deren Pyridinnucleotidgehalt wir messen wollten, sofort entnahmen und in eine Aceton-Trockeneis-Mischung eintrugen. Portionen von etwa 1 g des zu untersuchenden Gewebes wurden rasch und genau gewogen und

[4] *H. v. Euler, F. Schlenk, H. Heiwinkel* und *B. Högberg*, Z. physiol. Chem. **256**, 208 (1938).

[5] *P. Feigelson, J. N. Williams*, Jr. und *C. A. Elvehjem*, J. Biol. Chem. **185**, 741 (1951).

darauf im „Homogenizer" von *Potter* und *Elvehjem*[6] entweder (zur Bestimmung des oxydierten Anteiles der Pyridinnucleotide) mit 6 ml 2%iger Trichloressigsäure allein oder (zur Bestimmung der Gesamtkonzentration der Pyridinnucleotide) mit 9 ml einer wäßr. Lösung, welche in bezug auf Trichloressigsäure 2%ig und in bezug auf Wasserstoffperoxyd 5%ig ist, unter Eiskühlung homogenisiert.

Die sonst üblichen „Homogenizer" wurden für die Extraktion mit Wasserstoffperoxyd trichterförmig erweitert, um ein Überrinnen des Homogenats durch das starke Schäumen zu verhindern.

Die erhaltenen Vollhomogenate wurden nach kurzem Stehen bei 10000 U/Min. zentrifugiert, das Sediment nach Abgießen der überstehenden Flüssigkeit mit etwas 2%iger Trichloressigsäure gewaschen, die überstehenden Flüssigkeiten vereinigt und auf ein bestimmtes Volumen gebracht.

Da uns die von den amerikanischen Autoren[5] verwendete Sorte von Aktivkohle nicht zur Verfügung stand, mußten wir für die Extraktion eine Modifikation des Verfahrens entwickeln. Es gelang uns, durch entsprechende Vorbehandlung[7] aus handelsüblichem Norit eine Präparation herzustellen, welche quantitativ die Pyridinnucleotide aus den Lösungen adsorbiert, wenn sie mit diesen verrührt wird. Durch Verrühren mit 10%igem wäßrigen Pyridin lassen sich die Pyridinnucleotide wieder quantitativ eluieren.

Die Reduktion der Pyridinnucleotide zu ihren Dihydroderivaten erfolgte mit Hilfe einer Lösung von 0,2 g Natriumdithionit in 10 ml 0,5 m $NaHCO_3$-Lösung, die unmittelbar vor der Verwendung hergestellt werden muß.

Ergebnisse und Diskussion.

Die Ergebnisse unserer Meßreihen sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Wie man aus Tabelle 1 ersieht, erlaubt die beschriebene Methode eine recht genaue Bestimmung der gesuchten Werte; die Abweichungen dürften sogar mehr auf individuelle Verschiedenheiten der einzelnen Tiere als auf Meßfehler zurückzuführen sein.

Soweit Vergleichsmöglichkeiten vorhanden sind, stimmen unsere Werte im allgemeinen mit denjenigen anderer Untersucher[8] gut überein.

---

[6] *R. V. Potter* und *C. A. Elvehjem*, J. Biol. Chem. **114**, 495 (1936).

[7] 150 g Norit werden in 1 l 10%iger Salzsäure aufgekocht und darauf filtriert. Anschließend wird die Aktivkohle in 2 l destilliertem Wasser suspendiert und wiederholt gewaschen; schließlich trocknet man 8 bis 10 Stdn. bei 85 bis 95°.

[8] *J. Robinson*, *N. Levitas*, *F. Rosen* und *W. A. Perlzweig*, J. Biol. Chem. **170**, 653 (1947). — *P. Feigelson*, *J. N. Williams*, Jr. und *C. A. Elvehjem* ibid. **185**, 741 (1951). — *C. Carruthers* und *V. Suntzeff*, Arch. Biochem.

Tabelle 1. Konzentration der oxydierten und reduzierten Pyridinnucleotide in verschiedenen Geweben des Meerschweinchens. Die Zahlen stellen μg PN pro g Frischgewebe dar und sind arithmetische Mittelwerte aus den erhaltenen Ergebnissen; der mittlere Fehler wurde aus der Formel

$$\overline{M} = \pm \sqrt{\frac{\Sigma f^2}{n(n-1)}}$$

berechnet. In der Klammer ist die Anzahl der Versuche angegeben.

Organ	PN	PN + PN · H_2	PN · H_2 (ber.)	PN/PN · H_2
Leber.....	515 ± 18 (12)	664 ± 22 (7)	149	3,46
Niere	311 ± 15 (10)	497 ± 19 (8)	186	1,67
Herz	290 ± 18 (4)	412 ± 15 (8)	122	2,38
Hirn.....	176 ± 8 (5)	209 ± 11 (5)	33	5,33

Als Ausnahme sind die Ergebnisse von *McIlwain* und Mitarbeitern[9] zu erwähnen, welche im Hirn des Meerschweinchens etwas geringere Konzentrationen von Pyridinnucleotiden fanden als wir, was vermutlich auf die verschiedene Methodik zurückzuführen ist. Auch in bezug auf die Verteilung der PN auf die einzelnen Organe stimmen unsere Ergebnisse mit denjenigen anderer Autoren überein; *Jandorf*[10] fand bei der Ratte, daß die Konzentration der PN in den Organen Hirn, Muskel, Niere und Leber in der angegebenen Reihenfolge ansteigt, was völlig unseren Werten entspricht.

Aus dem Vergleich unserer Werte mit Angaben über die PN-Konzentrationen bei anderen Tieren ergibt sich, daß der Gehalt der Zellen an PN desto höher ist, je kleiner die betreffende Tierspezies ist; dies stimmt mit der allgemein beobachteten größeren Intensität der Stoffwechselvorgänge bei kleineren Tieren überein.

In ähnlicher Weise lassen sich wahrscheinlich auch die Konzentrationsunterschiede an PN zwischen den einzelnen von uns untersuchten Organen deuten: es ist anzunehmen, daß auch diese Werte Unterschiede in den Stoffwechselintensitäten wiederspiegeln.

Ohne Zweifel kommt auch dem Verhältnis zwischen oxydierten und reduzierten Formen der PN eine biologische Bedeutung zu; die Verhältnisse sind hier allerdings nicht leicht überschaubar. Entsprechend der Rolle der PN als Wasserstoff- bzw. Elektronenüberträger zwischen den Stoffwechselsubstraten einerseits und demjenigen Enzymsystem, welches die Elektronen schließlich zum molekularen Sauerstoff transportiert,

---

Biophysics **45**, 140 (1953). — *D. R. Strength, I. Ringler* und *W. L. Nelson*, ibid. **48**, 107 (1954).

[9] *M. Gore, F. Ibott* und *H. McIllwain*, Biochemic. J. **47**, 121 (1950).

[10] *B. Jandorf*, J. Biol. Chem. **150**, 89 (1943).

könnten vor allem folgende Faktoren als bestimmend für die Größe der Werte PN/PN · H_2 fungieren: Konzentration der Wasserstoffdonatoren (Stoffwechselsubstrate); Konzentration bzw. Funktionstüchtigkeit der Pyridinnucleotid-spezifischen Dehydrogenasen (Transhydrogenasen[3]); Konzentration bzw. Funktionstüchtigkeit der Fermentsysteme, welche den Weitertransport der Elektronen bis zum Sauerstoff katalysieren und von welchen wir wissen, daß sie aus einer Anzahl von Einzelfermenten bestehen; und schließlich die Konzentration, das heißt der Partialdruck des Sauerstoffes. Es ist zur Zeit kaum möglich, die Bedeutung jedes dieser Faktoren für das Gesamtsystem zu ermessen.

Abschließend soll hier kurz berichtet werden, daß wir in orientierenden Vorversuchen an diphtherie-intoxifizierten Meerschweinchen[11] in den Organen Leber, Niere und Herz eine signifikante Erhöhung des Quotienten PN/PN · H_2 beobachten konnten.

[11] Vgl. dazu *H. Eibl, W. Zischka, I. Dreher, O. F. Schwarz* und *O. Hoffmann-Ostenhof*, Mh. Chem. **81**, 616 (1950). — *O. F. Schwarz, H. Eibl, W. Zischka* und *O. Hoffmann-Ostenhof*, ibid. **82**, 391 (1951). — *W. Zischka, H. Eibl, O. F. Schwarz* und *O. Hoffmann-Ostenhof*, ibid. **82**, 571 (1951).

Die Synthese des mit ^{14}C am C_3 der Seitenkette markierten p-Cumaralkoholglucosides und des Syringins*.

Von

K. Kratzl und G. Billek.

Aus dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 3. Mai 1954.)

Die Synthese der beiden Glukoside ging von den entsprechenden kernhalogenierten Phenolbenzyläthern aus. Durch Austausch des Halogens gegen Lithium und Carboxylierung mit $^{14}CO_2$ wurde die 4-Benzyloxybenzoesäure und die Benzylsyringasäure erhalten. Deren Säurechloride wurden reduziert und nach Abspaltung der schützenden Benzylgruppen in die hochaktiven Aldehyde (p-Oxybenzaldehyd und Syringaaldehyd) übergeführt. Glucosidierung dieser und anschließende Malonsäurekondensation sowie Überführung in die Säurechloride, LAH-Reduktion und Verseifung der Zuckeracetylgruppen ergab in guter Ausbeute das am C_3 markierte p-Cumaralkoholglucosid bzw. das Syringin. Über die Resorption und Lokalisierung in der Cambiumzone von 2-^{14}C-markiertem Coniferin bei Fichtenholz geben einige Radioautographien Auskunft.

In unserer letzten Arbeit[1] haben wir die Synthese des 3-^{14}C-markierten Coniferins beschrieben und einen Weg zur Markierung des p-Cumaralkoholglucosids A und des Syringins B am C_2 festgelegt, wobei für beide Glucoside neue Synthesen ausgearbeitet wurden. Die Darstellung des am C_2 markierten Coniferins wurde schon früher in dieser Zeitschrift veröffentlicht[2].

Die Pyrogallol-1,3-dimethyläther-Gruppierung des Syringins B ist im Angiospermenlignin allgemein verbreitet. Das Syringin selbst wurde

* Diese Arbeit wird in aufrichtiger Dankbarkeit für die hochherzige Förderung Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zum 60. Geburtstag gewidmet.

[1] *K. Kratzl* und *G. Billek*, Holzforschung 7, 66 (1953).

[2] *K. Kratzl* und *G. Billek*, Mh. Chem. 84, 406 (1953).

aus zahlreichen Pflanzen isoliert und ist vermutlich sogar ständiger Inhaltsstoff des Cambialsaftes der dicotylen Angiospermen. Hingegen wird A erst in neuerer Zeit als Ligninvorstufe diskutiert. Wohl ist auch in älteren Arbeiten[3] p-Oxybenzoesäure z. B. aus den Reaktionsprodukten der Kalischmelze von Fichtenlignin isoliert worden. *M. Phillips* und *M. J. Goss*[4] haben aus methyliertem Lignin von Maisspindeln durch Oxydation Anissäure isoliert. *B. Rassow* und *P. Neumann*[5] haben aus dem Lignin des Pappelholzes gleichfalls p-Oxybenzoesäure erhalten. *H. Hibbert* und Mitarbeiter[6] konnten durch die von *Freudenberg* und *Lautsch*[7] beschriebene Oxydation des Holzes p-Oxybenzaldehyd isolieren, und seit der Einführung chromatographischer, insbesondere papierchromatographischer Methoden[8] zur Aufarbeitung der Oxydationsprodukte wurde im Lignin sehr vieler Pflanzenarten der p-Oxyphenyl-Baustein nachgewiesen. Die Menge dieses Bauelements ist bei Dikotyledonen[9] gering, bei den Monokotyledonen jedoch findet dieser Baustein allgemeine Verbreitung[6, 9].

Ein ganz eigenartiges „Lignin" scheint das Torfmoos (Sphagnum) zu besitzen. Wir hatten es vor einigen Jahren oxydativ abgebaut[10] und konnten kein Vanillin bzw. Syringaaldehyd in Substanz isolieren. Auch das Säurelignin hat einen sehr geringen Methoxylgehalt von nur 1%. In einer neueren Arbeit von *B. Lindberg* und *O. Theander*[11] konnte mit Hilfe papierchromatographischer Trennungsmethoden aus den oxydativen Abbauprodukten eine Aldehydfraktion erhalten werden, die zu 90% aus p-Oxybenzaldehyd bestand. Damit hätte Sphagnum ein „Lignin", das fast ausschließlich aus diesem Baustein aufgebaut ist, was auch vom phylogenetischen Standpunkt interessant erscheint. In diesem Zusammenhang sind auch die Befunde von *F. F. Nord* und

---

[3] *W. Fuchs*, J. Amer. Chem. Soc. **58**, 673 (1936).

[4] *M. Phillips* und *M. J. Goss*, J. Amer. Chem. Soc. **54**, 1518 (1932); **55**, 3466 (1933).

[5] *B. Rassow* und *P. Neumann*, Wbl. Papierfabrik **1935**, Sonder-Nr. 2 bis 31; Chem. Zbl. **1936 I**, 2748.

[6] *R. H. J. Creighton*, *R. D. Gibbs* und *H. Hibbert*, J. Amer. Chem. Soc. **66** 32 (1944). — *R. H. J. Creighton* und *H. Hibbert*, ibid. **66**, 37 (1944).

[7] *K. Freudenberg*, *W. Lautsch* und *K. Engler*, Ber. dtsch. chem. Ges. **73** 167 (1940).

[8] *D. E. Bland*, Nature **164**, 1093 (1949). — *J. E. Stone* und *M. J. Blundell* Analyt. Chemistry **23**, 771 (1951).

[9] *F. F. Nord* und *G. de Stevens*, Naturwiss. **39**, 479 (1952). — *B. Leopold* und Mitarb., Acta Chem. Scand. **6**, 38, 49, 311 (1952). — *K. Freudenberg* und *G. Gehrke*, Chem. Ber. **84**, 443 (1951).

[10] *K. Kratzl* und *J. Eibl*, Mitt. Öst. Ges. Holzforschung, Intern. Holzmarkt **3**, 77 (1951).

[11] *B. Lindberg* und *O. Theander*, Acta Chem. Scand. **6**, 311 (1952).

Mitarbeiter[12] bemerkenswert, da gezeigt werden konnte, daß der holzzerstörende Pilz *Lentinus lepidius* aus Glukose, Xylose oder Äthanol über Acetaldehyd p-Methoxy-zimtsäuremethylester synthetisieren kann, eine Tatsache, die von *F. F. Nord*[13] zu einer Hypothese über die Bildung solcher p-Oxy-phenylpropan-Bausteine aus Zuckern über C_2-Bruchstücke ausgewertet wurde.

Da somit die Kerngruppierungen von A und B als Bauelement verschiedenster Lignine gefunden wurden, hatten *K. Freudenberg* und Mitarbeiter[9] die Synthese des p-Cumaralkohols und des Sinapinalkohols[14] ausgearbeitet. Beide Alkohole wurden aus den an den phenolischen Gruppen acetylierten Zimtsäureestern durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid nach *C. H. F. Allen* und *J. R. Byers*[15] erhalten und stellen sehr empfindliche Substanzen dar. Aus dem p-Cumaralkohol erhielt *K. Freudenberg*[9] mit Pilzdehydrogenase ein ligninartiges Dehydrierungspolymerisat, das dem aus Coniferylalkohol entspricht, aber kein Methoxyl enthält. Der Sinapinalkohol kann durch eine Dehydrogenase der Mandeln in ein kristallisiertes Dimeres, das Syringaresinol umgewandelt werden, das in seiner Konstitution dem Pinoresinol analog ist[16]. Weiters wurde gefunden, daß der Sinapinalkohol mit Pilzredoxase bei pH 7 kein befriedigendes Dehydrierungspolymerisat liefert, hingegen aus gleichmolekularem Gemisch von Coniferyl- und Sinapinalkohol ein richtiges Dehydrierungsmischpolymerisat entsteht[17]. Auch in der Natur wurde bisher kein Lignin gefunden, das nur aus Syringabausteinen aufgebaut ist, die Syringakomponente tritt immer gemeinsam mit der Vanillingruppierung auf[17].

Da in der Natur der Sinapinalkohol glucosidiert als Syringin vorkommt und der p-Cumaralkohol wahrscheinlich in ähnlicher Weise als Glucosid vorliegen dürfte, haben wir beide Glucoside hergestellt, sie mit ^{14}C markiert und stellen sie den verholzenden Pflanzen verschiedenster Gattung mit Hilfe der bereits beschriebenen Methoden[1] zur Verfügung, um einerseits durch Radioautographie die Lokalisierung, anderseits durch chemische Abbaumethoden die Identifizierung des aktiven Lignins zu ermöglichen.

Das p-Cumaralkoholglucosid wurde bereits auf einem anderen Wege von *K. Freudenberg* und *G. Gehrke*[9] durch Glucosidierung des p-Cumar-

---

[12] *J. C. Vitucci* und *F. F. Nord*, Arch. Biochemistry **14**, 243 (1947). — *F. F. Nord* und *J. C. Vitucci*, Adv. Enzymol. **8**, 253 (1948).

[13] *F. F. Nord* und *W. J. Schubert*, Holzforschung **5**, 1 (1951).

[14] *K. Freudenberg* und *R. Dillenburg*, Chem. Ber. **84**, 67 (1951).

[15] *C. H. F. Allen* und *J. R. Byers*, J. Amer. Chem. Soc. **71**, 2683 (1949).

[16] *K. Freudenberg* und *H. Dietrich*, Chem. Ber. **86**, 4 (1953).

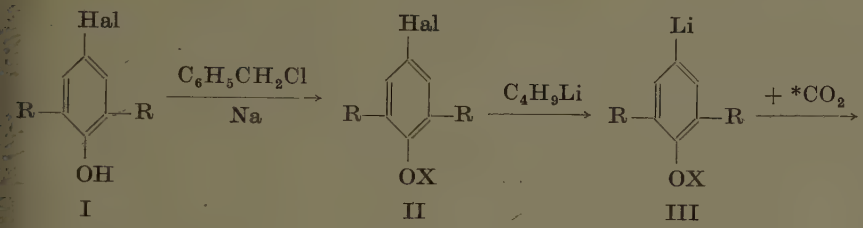
[17] *K. Freudenberg*, *R. Kraft* und *W. Heimberger*, Chem. Ber. **84**, 472 (1951). — *K. Freudenberg* und *H. H. Hübner*, ibid. **85**, 1181 (1952).

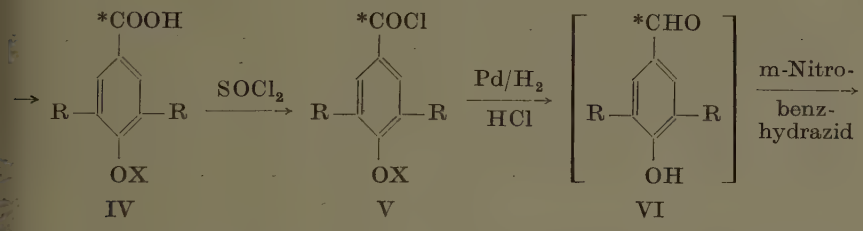
alkohols hergestellt. Eine Synthese des Syringins durch enzymatisch Reduktion des Tetraacetyl-gluco-sinapinaldehyds wurde von *H. Pauli*[18] beschrieben. Diese Wege eignen sich kaum zur Darstellung der markierten Verbindungen.

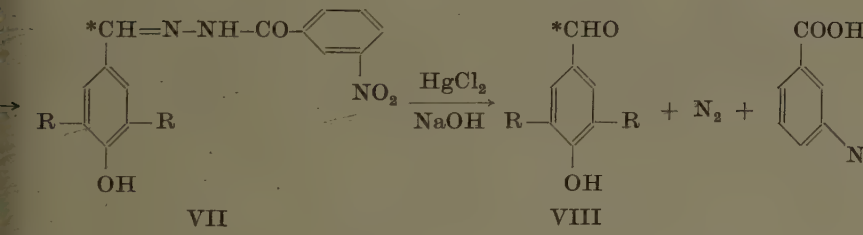
Unser Syntheseweg war folgender (Formeltafel): Im Falle A wurde von 4-Jodphenol I (A) ausgehend, dieses nach *D. Matheson* und *H. McCombie*[19] zu II (A) benzyliert. In diesem Falle hat sich das Jodderivat zur Darstellung der Lithiumverbindung als wesentlich günstiger erwiesen als im Falle B, wo der 5-Brom-pyrogallol-1,3-dimethyläther I (B) zur Verwendung kam. Dieser wurde auf dem Weg über Gallussäure, Trimethylgallussäure[20], Syringasäure[21], Decarboxylierung zum Pyrogallol-1,3-dimethyläther[22], Tribromderivat[23] und Entbromierung mit Zink nach *M. Kohn* und *L. Steiner*[24] zum Monobromderivat hergestellt. Nach Benzylierung erhält man das Benzylderivat II (B). Durch Umsatz mit Butyllithium wurden die Li-Verbindungen III (A) bzw. III (B) erhalten. Die Carboxylierung mit $^{14}CO_2$ wurde in der bereits beschriebenen Apparatur[1] durchgeführt. In guter Ausbeute wurde im Fall A die 4-Benzyl-oxybenzoesäure IV (A), bei B die Benzyl-syringasäure IV (B) erhalten. Die Säuren wurden mit Thionylchlorid in die Chloride V (A) bzw. V (B) übergeführt und diese der *Rosenmund*-Hydrierung unterworfen. Dabei findet nur eine mäßige Abspaltung des Benzylrestes statt. Dieser muß in beiden Fällen durch Nachbehandlung mit starker Salzsäure entfernt werden. Man erhält so die unreinen Aldehyde VI. Im Falle A den p-Oxy-benzaldehyd, im Falle B den Syringaaldehyd. Wie beim markierten Vanillin[1] hat sich auch hier die mit *H. Silbernagel*[25] ausgearbeitete Reinigungsmethode für Oxyaldehyde besonders bewährt. Sie beruht darauf, daß man mit m-Nitrobenzhydrazid quantitativ fällt, wobei man die m-Nitrobenzhydrazone VII (A) bzw. VII (B) erhält. Diese werden in Lauge gelöst und durch Zusatz von $HgCl_2$ und Erwärmung unter Abspaltung von N_2 und der m-Nitrobenzoesäure quantitativ zu den reinen Aldehyden VIII (A) bzw. VIII (B) gespalten. Durch Umsatz mit Acetobromglucose werden die beiden β-Glucoside IX (A) bzw. IX (B) erhalten, die bei der Malonsäurekondensation die Tetraacetyl-gluco-p-cumarsäure X (A) bzw. die Tetraacetyl-gluco-sinapinsäure X (B) ergeben. Bei der Glucosidierung sind die Ausbeuten schlecht, doch können durch

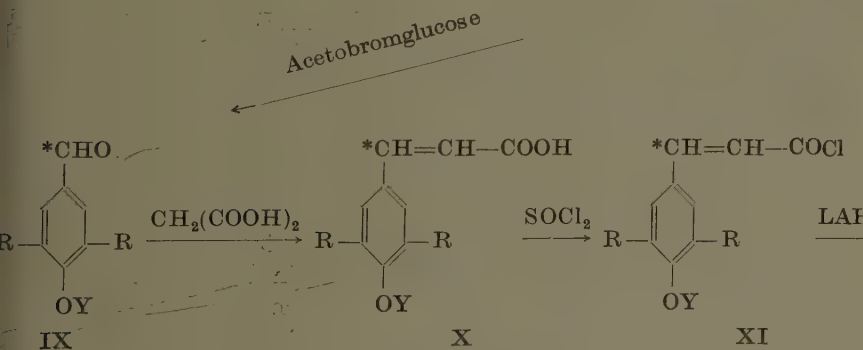
---

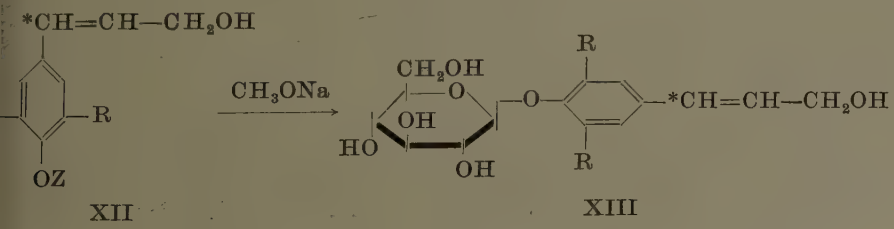
[18] *H. Pauly* und *L. Strassberger*, Ber. dtsch. chem. Ges. **62**, 2277 (1929).
[19] *D. Matheson* und *H. McCombie*, J. Chem. Soc. London **1931**, 1103.
[20] *M. T. Bogert* und *B. B. Coyne*, J. Amer. Chem. Soc. **51**, 571 (1929).
[21] *E. C. Horning* und *J. A. Parker*, J. Amer. Chem. Soc. **74**, 2107 (1952).
[22] *G. Hahn* und *H. Wassmuth*, Ber. dtsch. chem. Ges. **67**, 702 (1934).
[23] *M. Kohn* und *S. Grün*, Mh. Chem. **46**, 86 (1925).
[24] *M. Kohn* und *L. Steiner*, J. Org. Chem. **12**, 30 (1947).
[25] *K. Kratzl* und *H. Silbernagel*, unveröffentlicht.


Hal
R
R
OH
I
$C_6H_5CH_2Cl$
Na
Hal
R
R
OX
II
C_4H_9Li
Li
R
R
OX
III
$+ *CO_2$


*COOH
R
R
OX
IV
$SOCl_2$
*COCl
R
R
OX
V
Pd/H_2
HCl
*CHO
R
R
OH
VI
m-Nitro-
benz-
hydrazid


*CH=N–NH–CO
NO_2
R
R
OH
VII
$HgCl_2$
NaOH
*CHO
R
R
OH
VIII
$+ N_2 +$
COOH
NO_2


Acetobromglucose
*CHO
R
R
OY
IX
$CH_2(COOH)_2$
*CH=CH–COOH
R
R
OY
X
$SOCl_2$
*CH=CH–COCl
R
R
OY
XI
LAH


*CH=CH–CH₂OH
R
OZ
XII
CH_3ONa
CH_2OH
O
OH
HO
OH
O
R
R
*CH=CH–CH₂OH
XIII

A. p-Cumaralkohol-β-Glucosid: $R = H$, $Hal = J$

B. Syringin $R = CH_3O$, $Hal = Br$

$X = C_6H_5CH_2$

$Y =$ Tetra-acetyl-glucosido-

$Z =$ Partiell acetylierter Glucoserest.

die oben beschriebenen Fällungs- und Reinigungsmethoden wesentliche Mengen hochaktiver Aldehyde rückgewonnen werden. Beide Säuren wurden mit Thionylchlorid in die Chloride XI (A) bzw. XI (B) übergeführt und diese mit $LiAlH_4$ zu den Zimtalkoholen XII (A) und XII (B) reduziert. Wieder hat sich hier die Anwendung des Säurechlorids hervorragend bewährt, da vorwiegend Reduktion an der Carboxylgruppe eintritt und nur geringe Abspaltung der Acetylreste stattfindet, so daß

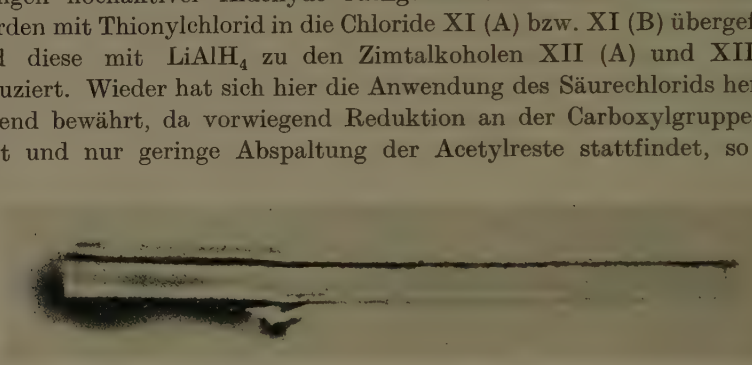


Abb. 1. Radioautogramm eines Fichtenästchens, Längsschnitt, 4× vergr. (Röntgenfilm, 5 Tage Expositionszeit).

die partiell acetylierten Glucoside XII (A) bzw. XII (B) noch in Chloroform löslich sind. Durch Verseifung der restlichen Acetylgruppen wird im Falle A das p-Cumaralkoholglucosid XIII (A) und im Falle B das Syringin XIII (B) in guter Ausbeute erhalten. Bei einem Einsatz von 213,5 μC $Ba^{14}CO_3$ wurde das p-Cumaralkoholglucosid mit einer Aktivität von 52500 Zerfällen $\cdot$ $min^{-1} \cdot mg^{-1}$ erhalten; das Syringin hatte beim Einsatz von 298 μC eine Aktivität von 279.000 Zerfällen $\cdot$ $min^{-1} \cdot mg^{-1}$.

Mit dem 2-^{14}C-markierten Coniferin wurden voriges Jahr Resorptionsversuche unternommen. Je 2 bis 3 mg Coniferin einer spez. Aktivität von $8{,}5 \cdot 10^4$ mg^{-1} min^{-1} wurden Mitte Mai in einem Seitenästchen einer Fichte unter die Rinde implantiert. Die Aufarbeitung der Versuche fand im heurigen Winter statt. Zur allgemeinen Orientierung über die Verteilung der Aktivität wurde der Ast in der Mitte der Länge nach durchgeschnitten und gleichzeitig mit einer inaktiven Blindprobe auf Röntgenfilm aufgelegt. Nach 5 Tagen Einwirkung wurde entwickelt; die Chemographie ist recht gering (Blindprobe). Die Abb. 1 zeigt, daß auf der Seite der Implantation starke Aktivität vorhanden (links unten), während dort, wo die Rinde nicht mehr anwächst, keine Aktivität (abgestorbenes Cambium) nachzuweisen ist. Ähnlich wie *K. Freudenberg* und Mitarbe

ter[26] bei der Implantation von 1-^{14}C-Coniferin beobachteten, befindet sich nach der Inplantation die Hauptaktivität im schmalen Ring der Cambialzone. Von dieser werden im Laufe der Holzbildung nach innen Holzelemente gebildet, welche sodann die Aktivität aufweisen. Diese befindet sich in einer nur wenige Zellschichten starken Zylindermantelfläche um den Ast herum. Im Längsschnitt erscheint deshalb auf der Gegenseite der Inplantationsstelle eine scharfe Spur, die beweist, daß nur eine enge Zone (siehe auch Querschnitt, Abb. 2) aktive Substanz enthält, die aus den Holzzellen (Tracheiden) des ehemals aktiven Cambiums gebildet wurde. Die Wanderung der aktiven Substanz im Cambium betrug einige Zentimeter. Auch in der Rinde ist eine allerdings geringe Aktivität nachzuweisen. Im Querschnitt — siehe Übersichtsskizze (Abb. 2) — konnte gezeigt werden, daß nach Verbrauch des aktiven Coniferins inaktives Frühholz nachwächst. Die aktive Ringzone ist nur 3 bis 4 Zellschichten stark, ein Hinweis, daß das Coniferin in verhältnismäßig kurzer Wachstumszeit aufgenommen wurde. Da das Ästchen mehrere Tage in kaltem Alkohol und mehrere Stunden mit siedendem Alkohol und Wasser extrahiert wurde, kann kein unverändertes aktives Coniferin die Ursache dieser Erscheinung sein, sondern das 2-^{14}C-Coniferin muß im Sinne *K. Freudenbergs* im Cambium in ein weitgehend unlösliches Polymeres übergeführt worden sein. Wie weit es als aktives Lignin anzusprechen ist, davon sollen uns laufende Abbauversuche (Oxydation, Sulfitierung und Äthanolyse) Auskunft geben.

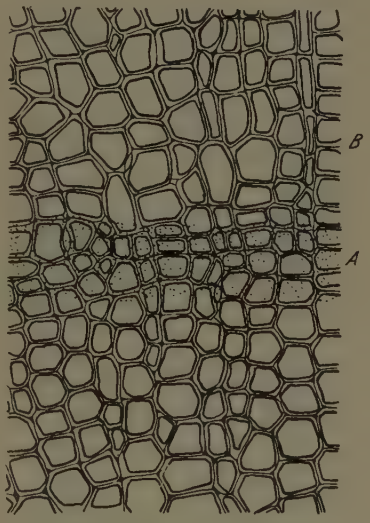


Abb. 2. Übersichtszeichnung eines Fichtenholzquerschnittes, 680× vergr. (Ilford Special Lantern Emulsion; 6 Wochen Expositionszeit). *A* = aktive Zone, *B* = = nachgewachsenes inaktives Frühholz.

Weitere Radioautographien verschiedener mikroskopischer Schnitte, die von Prof. *J. Kisser* und *G. Linhardt*, Hochschule für Bodenkultur, Wien, angefertigt wurden, werden in der Z. f. Mikroskopie veröffentlicht.

---

[26] *K. Freudenberg* und *F. Bittner*, Chem. Ber. **86**, 155 (1953). — *K. Freudenberg, H. Reznik, W. Fuchs* und *M. Reichert*, Angew. Chem. **66**, 109 (1954).

Experimenteller Teil.

A. Die Synthese des 3-^{14}C-p-Cumaralkoholglucosids.

4-Jod-phenyl-benzyläther II (A) nach D. Matheson und H. McCombie[19]. *Carboxyl-^{14}C-4-Benzyloxybenzoesäure IV (A).*

Die Umsetzung von II (A) mit n-Buthyllithium zum 4-Lithiumphenylbenzyläther III (A) sowie die anschließende Carboxylierung wird in einer Universalapparatur für Synthesen mit $^{14}CO_2$ durchgeführt[1, 27].

Das Reaktionsgefäß wird mit 1,55 g (= 5 mMole) 4-Jodphenylbenzyläther II (A) in 20 ccm absol. Äther, der Kolben des Gasentwicklers mit 502,9 mg $BaCO_3$ (= 2,55 mMole) einer nominellen Aktivität von 213,5 μC und der Tropftrichter mit 15 ccm konz. Schwefelsäure beschickt. Daraufhin wird die Apparatur mit trockenem Stickstoff gespült, die magnetische Rührung eingeschaltet und die Lösung von II (A) mittels Trockeneis-Aceton gekühlt, wobei II (A) auskristallisierte. Durch den Tropftrichter wird eine Lösung von 320 mg (= 5 mMole) Butyllithium[28] in Äther rasch zutropfen gelassen, das Gemisch verflüssigt sich zu einer hellvioletten Lösung, die nach Entfernen des Kältebades 5 Min. gerührt wird. Das Reaktionsgemisch wird daraufhin *sofort* mit flüssiger Luft ausgefroren, die gesamte Apparatur auf 0,001 Torr evakuiert, von der Pumpe abgeschaltet, das Kühlbad entfernt und langsam erwärmen gelassen.

Sobald sich das Gemisch hinreichend verflüssigt und die Rührung in Gang kommt, wird in der vollständig abgeschlossenen Apparatur das Kohlendioxyd durch Zutropfenlassen der Schwefelsäure zum Bariumkarbonat innerhalb von 5 Min. entwickelt. Um die letzten Reste CO_2 im Reaktionsgefäß zu kondensieren, wurde dieses erneut mit flüssiger Luft gekühlt und das Zersetzungsgefäß mit siedendem Wasser erhitzt. Sobald kein weiterer Druckabfall in der Apparatur zu beobachten ist, wird das Kühlbad entfernt und bei ständigem Rühren auf 0° erwärmen gelassen.

Die Apparatur wird mit N_2 bis zu Normaldruck gefüllt und die hellviolette trübe Lösung mit 20 ccm verd. Salzsäure (1 : 1) versetzt. Die wäßr. Phase wird mit insgesamt 120 ccm Äther erschöpfend ausgeschüttelt, die ätherische Lösung mit 1 g KOH in 100 ccm Wasser in mehreren Anteilen ausgezogen. Die Lösung des Kaliumsalzes wird filtriert, durch Erwärmen vom gelösten Äther befreit und angesäuert. 258 mg (= 44%) Carboxyl-^{14}C-4-benzyloxy-benzoesäure, die mit 250 mg inaktiver Säure verdünnt, aus 5 ccm Äthanol umkristallisiert 442 mg vom Schmp. 188 bis 190° ergibt.

Carboxyl-^{14}C-4-benzyloxy-benzoylchlorid V (A).

442 mg vorstehender Säure IV (A) werden mit 3 ccm Thionylchlorid in einem Kugelrohr $1^1/_2$ Stdn. auf 70° erwärmt, das überschüssige $SOCl_2$ abdestilliert und der Rückstand bei 0,1 Torr und 170° Luftbad destilliert. 477 mg (= 99%) vom Schmp. 106°.

Carbonyl-^{14}C-4-oxybenzaldehyd-m-nitrobenzhydrazon VII (A).

477 mg Säurechlorid V (A) werden in 9 ccm absol. Xylol gelöst, mit 100 mg 5% Palladium-Bariumsulfat und 0,01 ccm der üblichen 10%igen

[27] *M. Calvin*, Isotopic Carbon, S. 179ff. New York: J. Wiley and Sons Inc. 1949.

[28] Organic Reactions, Bd. VI, S. 352.

Xylollösung von Chinolin S[29] versetzt. Die Reduktion erfolgt in einer von *K. Freudenberg*[17] angegebenenen Apparatur bei einer Badtemp. von 155° und ist nach $4^1/_2$ Stdn. beendet, was durch Titration feststellbar ist. Die filtrierte Lösung wird zur Trockene gedampft, das Öl mit 30 ccm Äthanol und 30 ccm konz. Salzsäure im N_2-Strom zum Sieden erhitzt, wobei das mit dem Benzylchlorid abdestillierende Lösungsmittel ergänzt wird. Die von geringen Verharzungen filtrierte Lösung wird auf 150 ccm mit Wasser verdünnt, durch starke Natronlauge auf pH 5 bis 6 gebracht und heiß mit 0,5 g m-Nitrobenzhydrazid in 20 ccm Wasser gefällt. Nach guter Kühlung abgesaugt: 240 mg (= 43%) vom Schmp. 282 bis 284°.

Carbonyl-^{14}C-4-oxybenzaldehyd VIII (A).

240 mg (0,842 mMole) m-Nitrobenzhydrazon werden in 12 ccm 2 n NaOH gelöst, zum Sieden erhitzt und tropfenweise mit 3,37 ccm (3,368 mMole) einer 1 n $HgCl_2$-Lösung versetzt, hierbei wird unter N_2-Entwicklung das Hydrazon rasch gespalten. Die erhaltene Lösung wird vom Quecksilber filtriert, auf pH 7 gebracht und mit Äther erschöpfend extrahiert. Es werden so 100 mg (= 97%) kristalliner 4-Oxy-benzaldehyd vom Schmp. 115 bis 116° erhalten. Die Messung ergab: 542.000 Zerfälle·min^{-1}·mg^{-1}.

Eine 1 n $HgCl_2$-Lösung ist übersättigt, es muß daher Natriumchlorid zur Bildung des löslichen Komplexes zugesetzt werden. Für 1 Mol Aldehydhydrazon sind 4 Mole $HgCl_2$ zur Oxydation notwendig.

Carbonyl-^{14}C-tetraacetyl-gluco-4-oxybenzaldehyd IX (A).

100 mg Carbonyl-^{14}C-4-oxybenzaldehyd, 337 mg Acetobromglucose, 172 mg K_2CO_3 werden in 2,5 ccm Aceton und 1,6 ccm Wasser bei Zimmertemp. 48 Stdn. stehen gelassen, danach wird unter vermindertem Druck das Aceton entfernt und das ausgefallene Öl in Benzol aufgenommen. Die mit verd. KOH-Lösung gewaschene und getrocknete Lösung wird abgedampft und gibt 139 mg (= 40%) für die Weiterverarbeitung genügend reines Glucosid.

Die beiden wäßr. Phasen, die den nicht umgesetzten 4-Oxybenzaldehyd enthalten, werden auf 200 ccm verdünnt, angesäuert, filtriert und erneut mit m-Nitrobenzhydrazid gefällt. Spaltung der so erhaltenen 140 mg m-Nitrobenzhydrazon ermöglicht die Rückgewinnung von 58 mg (= 58%) Carbonyl-^{14}C-4-oxybenzaldehyd.

3-^{14}C-Tetraacetyl-gluco-p-cumarsäure X (A).

139 mg von IX (A) werden mit 100 mg inaktivem Tetraacetyl-4-oxybenzaldehyd verdünnt, mit 138 mg Malonsäure, 0,25 ccm Pyridin und 0,01 ccm Piperidin $1^1/_2$ Stdn. auf 100° erwärmt. Danach wird mit 25 ccm Wasser versetzt und nach guter Kühlung abgesaugt: 237 mg (= 91%) vom Schmp. 158 bis 161°. Aus 0,7 ccm Äthanol 193 mg (= 74%).

3-^{14}C-Tetraacetyl-gluco-p-cumarsäurechlorid XI (A).

193 mg vorstehender Säure werden mit 2 ccm absol. Benzol und 1 ccm Thionylchlorid $1^1/_2$ Stdn. auf 75° erwärmt, zur Trockene gedampft und bei Zimmertemp. im Vak. getrocknet. 197 mg (= 98%) vom Schmp. 145 bis 150°. Zur Weiterverarbeitung werden 181 mg inaktives Säurechlorid zugesetzt.

---

[29] Organic Reactions, Bd. IV, S. 368.

3-^{14}C-Gluco-p-cumaralkohol-acetat XII (A).

278 mg Säurechlorid XI (A) werden in 8 ccm absol. Dioxan und 12 ccm absol. Äther gelöst und auf — 15° gekühlt. Unter kräftigem Rühren und Durchleiten von N_2 werden im Verlauf von $^1/_2$ Std. 120 mg LAH in 12 ccm Äther zutropfen gelassen. Anschließend wird eine weitere $^1/_2$ Std. gerührt und 2 Stdn. bei Zimmertemp. stehen gelassen.

Das kristalline Anlagerungsprodukt wird abgesaugt, mit Äther gewaschen und noch feucht in eine Lösung von 0,1 g Borsäure in 5 ccm Wasser eingerührt, mit 0,2 ccm Schwefelsäure in 2 ccm Wasser versetzt und erschöpfend erst mit insgesamt 50 ccm Benzol, dann mit 40 ccm Chloroform ausgeschüttelt. Die beiden getrockneten Lösungen werden unter vermindertem Druck abgedampft und hinterlassen 152 mg eines hellgelben Öles, das sofort verseift wurde.

3-^{14}C-p-Cumaralkoholglucosid XIII (A).

Das so erhaltene Öl wird in 1 ccm absol. Chloroform gelöst und bei — 15° mit einer Lösung von 6 mg Natrium in 1 ccm Methanol versetzt. Nach 20 Min. wird 1 ccm Eiswasser zugefügt und mit verd. Essigsäure neutralisiert. Nach Einengen auf ungefähr $1^1/_2$ ccm kristallisieren 60 mg (= 24%) aus, die, aus 1 ccm Wasser umgelöst, 35 mg vom Schmp. 180 bis 182° ergeben.

Die Bestimmung der spez. Aktivität ergab 52500 Zerfälle·min.$^{-1}$.mg^{-1}.

B. Die Synthese des 3-^{14}C-Syringins.

5-Brom-pyrogallol-1,3-dimethyl-2-benzyläther II (B).

3,05 g 5-Brom-pyrogallol-1,3-dimethyläther I (B)[24], 340 mg Natrium und 1,65 g Benzylchlorid werden in 20 ccm absol. Äthanol 4 Stdn. unter Rückfluß gekocht, heiß filtriert und unter vermindertem Druck zur Trockene gedampft. Der ölige Rückstand wird mit verd. NaOH-Lösung digeriert, in Äther aufgenommen, die ätherische Lösung mehrmals mit Lauge ausgeschüttelt, getrocknet und abgedampft. Destillation des Rückstandes im Kugelrohr bei 0,1 Torr und 160° Badtemp. gibt 2,85 g (= 67%) hellgelbes Öl, das bald erstarrt. Schmp. 53°.

$C_{15}H_{15}O_3Br$. CH_3O ber. 19,21, gef. 19,00, 18,91%.

Carboxyl-^{14}C-benzyl-syringasäure IV (B).

1,14 g (= 3,53 mMole) 5-Brom-pyrogallol-1,3-dimethyl-2-benzyläther II (B) in 20 ccm Äther werden wie bei II (A) mit 180 mg (= 2,81 mMole) Butyllithium in Äther umgesetzt. Die Lithiumverbindung III (B) fällt als dichter weißer Niederschlag aus. Die Carboxylierung, von 417 mg (= 2,12 mMole) $BaCO_3$ einer nominellen Aktivität von 298 μC ausgehend, sowie die Aufarbeitung erfolgt analog II (A). Es werden 380 mg (= 62%) Benylssyringasäure erhalten, die aus 2,9 ccm Äthanol-Wasser (1 : 1) umkristallisiert 334 g (= 53%) reine Säure vom Schmp. 155 bis 157° ergeben.

Carboxyl-^{14}C-benzyl-syringasäurechlorid V (B).

334 mg aktive Säure, mit 334 mg inaktiver Benzylsyringasäure verdünnt, geben wie bei V (A) 568 mg (= 80%) reines Säurechlorid vom Schmp. 45°.

Carbonyl-^{14}C-syringaaldehyd VIII (B).

568 mg Säurechlorid V (B) in 10 ccm Xylol werden mit 100 mg Katalysator und 0,01 ccm Chinolin S wie bei VI (A) reduziert und der Benzylätherspaltung

unterworfen. Mit 0,5 g m-Nitrobenzhydrazid gefällt, werden 455 mg (= 71%) m-Nitrobenzhydrazon VII (B) vom Schmp. 205° erhalten. Die Oxydation mit $HgCl_2$ und Extraktion mit Äther gibt 192 mg (= 80%) reinen Syringaaldehyd VIII (B) vom Schmp. 114 bis 115° und einer Aktivität von 481.000 Zerfällen·min^{-1}·mg^{-1}.

Carbonyl-^{14}C-tetraacetyl-gluco-syringaaldehyd IX (B).

192 mg Syringaaldehyd VIII (B), 434 mg Acetobromglucose, 222 mg K_2CO_3 in 5 ccm Aceton und 3,2 ccm Wasser geben wie bei IX (A) 324 mg (= 60%) Glucosid vom Schmp. 156 bis 159°.

3-^{14}C-Tetraacetyl-gluco-sinapinsäure X (B).

Aus 324 mg Glukosid IX (B), 175 mg Malonsäure, 0,4 ccm Pyridin und 0,02 ccm Piperidin werden analog X (A) 308 mg (= 80%) erhalten und aus 3 ccm Äthanol umkristallisiert: 249 mg (= 69%) Tetraacetyl-gluco-sinapinsäure vom Schmp. 165 bis 166°.

3-^{14}C-Tetraacetyl-gluco-sinapinsäurechlorid XI (B).

249 mg vorstehender Säure werden wie bei XI (A) chloriert. Die Ausbeute an Säurechlorid, das jedoch nur als Öl erhalten wird, ist praktisch quantitativ.

3-^{14}C-Syringinacetat XII (B).

248 mg aktives Säurechlorid werden mit der gleichen Menge inaktiver Substanz verdünnt und in 14 ccm Dioxan und 20 ccm Äther mit 180 mg LAH in 20 ccm Äther wie bei XII (A) reduziert und aufgearbeitet.

3-^{14}C-Syringin XIII (B).

Die Verseifung erfolgt ebenfalls analog XIII (A) mit je 2 ccm Chloroform, Natriummethylatlösung und Wasser. Es werden nach Umkristallisieren aus wenig Wasser 112 mg (= 28%) reines Syringin vom Schmp. 190 bis 191° erhalten.

Das Syringin hatte eine Aktivität von 279.000 Zerfällen · min^{-1} · mg^{-1}.

Herrn Prof. *J. Kisser* und Herrn *G. Linhardt* sind wir für die Mitarbeit und Diskussion botanischer Fragen, Frau Dr. *H. Lauda* für die Hilfe bei der Anfertigung der Radioautographien zu großem Dank verpflichtet.

Diese Arbeit wurde durch Mittel der Österreichischen Gesellschaft für Holzforschung unterstützt, wofür auch an dieser Stelle bestens gedankt sei.

Stoffwechselversuche mit radioaktiv markiertem Buttergelb*

Von

W. Zischka, K. Karrer, O. Hromatka und **E. Broda.**

Aus dem Pathologisch-anatomischen Institut
und dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 28. Juni 1954.)

Mit Radiokohlenstoff am Kern markiertes Buttergelb wurde an Ratten verfüttert. Nach Ablauf bestimmter Zeit wurde die spezifische Radioaktivität des Kohlenstoffs in Organen der Tiere bestimmt. Die spezifische Aktivität des Kohlenstoffs ist in manchen anderen Organen von der gleichen Größenordnung wie in der Leber. Auffallend hohe und lange andauernde Aktivität zeigt das Blut, und zwar ist die Aktivität mit den Blutkörperchen vergesellschaftet. Der Radiokohlenstoff wird aus dem Körper innerhalb weniger Wochen ausgeschieden, und zwar hauptsächlich durch den Harn, zu einem geringeren Teile durch die Faeces. Kein Radiokohlenstoff wird veratmet.

Einleitung.

Das sogenannte Buttergelb (p-Dimethylamino-azobenzol) ist ei fettlöslicher Farbstoff, der durch Jahrzehnte zum Färben von Butte Käse und Margarine verwendet wurde. Im Jahre 1936 wurde zuers von *Kinosita*[1] und in der Folgezeit von einer großen Anzahl Autoren berichtet, daß Buttergelb bei Ratten nach entsprechend langer Fütterun in einem hohen Prozentsatz nach anfänglicher Leberschädigung zur Auftreten von Lebercirrhose, Leberadenomen und schließlich Lebe carcinomen führt. Seither sind zahlreiche morphologische[3, 4,

* Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zum 60. Geburtstag in Verehrung zugeeigne

[1] *R. Kinosita*, Trans. Soc. Path. Japon. **27**, 665 (1937).

[2] Siehe *J. Zeitlhofer*, Der Krebsarzt **6**, 154 (1951).

[3] *N. Brock, H. Druckrey* und *H. Hamperl*, Z. Krebsforsch. **50**, 431 (1940

[4] *E. L. Opie*, J. Exper. Med. **80**, 231 (1944).

[5] Siehe *J. A. Miller* und *E. C. Miller*, Advances in Cancer Research
339 (1953).

chemische[5, 6] und pharmakologische[7] Untersuchungen angestellt worden, die der Aufklärung der Wirkungsweise des Buttergelbs dienen sollen. Unter anderem wurden die Abhängigkeit der Krebserzeugung von der Dosis[7] und der Abbau des Buttergelbs im Tierkörper untersucht[5].

Zur Aufklärung des Stoffwechsels ist offenbar die Verwendung *markierten* Buttergelbs von großem Vorteil. Tatsächlich ist Buttergelb mit schwerem Stickstoff, mit schwerem inaktiven Kohlenstoff und auch mit langlebigem radioaktiven Kohlenstoff markiert worden, und zwar im letzteren Falle an den Methylgruppen[8]. Da aber zu vermuten ist, daß die Verfolgung des Weges des Benzolkern-Kohlenstoffs im Körper mehr Aufschluß über den Mechanismus der Krebsentstehung geben wird, als die Verfolgung des Weges des Methyl-Kohlenstoffs, wurde neuerdings aus Radioanilin ein am Benzolkern markiertes Buttergelb hergestellt[9]. Dieses Buttergelb enthält Radiokohlenstoff in dem Benzolring, der die Dimethylaminogruppe nicht enthält, und zwar ausschließlich in der der Azogruppe benachbarten Stellung.

Um nun den Weg dieses Kohlenstoffs im Körper zu verfolgen, haben wir einer Anzahl Ratten je eine Portion Buttergelb per os zugeführt. Von einer Mehrfachfütterung wurde zunächst abgesehen, um möglichst einfache Versuchsbedingungen zu schaffen. Nach bestimmten Zeitintervallen wurden die Tiere getötet und mehrere Organe auf Radioaktivität geprüft. Diese zeigt an, welcher Teil des Kohlenstoffs, der im Buttergelb die genannte Stellung einnimmt, sich zur gegebenen Zeit im betreffenden Organ befindet. Der Kohlenstoff kann natürlich in Form von intaktem Buttergelb oder von Abbauprodukten vorliegen.

Experimentelle Durchführung.

Die verwendeten Tiere männlichen und weiblichen Geschlechtes entstammen einem seit Jahren am Institut für Pathologische Anatomie fortgezüchteten gesunden Rattenstamm, der in üblicher Weise mit Nahrungsmittelabfällen gefüttert wird. Eine besondere Diät wurde nicht eingehalten. Das Körpergewicht der verwendeten Tiere betrug im Mittel etwa 250 g, streute jedoch beträchtlich.

Nach einer Hungerperiode von 24 Stdn. wurden mittels Schlundsonde 3 mg markierten Buttergelbs in 0,8 ml Olivenöl direkt in den Magen der Tiere eingebracht. Jede Portion enthielt 0,25 Microcurie Radiokohlenstoff, entsprechend etwa 555000 Zerfällen pro Min. Die Sonde wurde mit 1 ml Olivenöl nachgespült. Die verabreichte Menge wurde von den Tieren gut vertragen.

Wurden die Tiere innerhalb von 24 Stdn. nach der Fütterung getötet,

---

[6] *H. v. Euler, B. v. Euler* und *H. Hasselquist*, Z. Krebsforsch. **59**, 652 (1954).

[7] *H. Druckrey* und *K. Küpfmüller*, Z. Naturforsch. **3** b, 254 (1948).

[8] Siehe Anm. 9.

[9] *O. Hromatka* und *L. Schlager*, Mh. Chem. **85**, 29 (1954).

so bekamen sie keine weitere Nahrung. Erfolgte die Tötung dagegen erst zu einem späteren Zeitpunkt, so erhielten sie wieder ihr gewohntes Futter. Die Tiere wurden durch Nackenschlag getötet, sofort obduziert und die zu untersuchenden Organe entnommen. Die Organe wurden sofort weiter verwendet; für eventuelle Mehrfachbestimmungen, wie sie bisweilen notwendig waren, wurden sie bei — 20° C gelagert. Um Verluste zu vermeiden, wurde von einer Homogenisierung abgesehen. Es ist zwar damit zu rechnen, daß verschiedene Teile des gleichen Organs verschiedene Aktivitäten aufweisen können, doch dürfte der dadurch verursachte Fehler beim gegenwärtigen Stand der Untersuchungen keine große Rolle spielen.

Zum Zwecke der Messung der Radioaktivität wurde eine hinreichende Menge des Organs nach der Methode von *Van Slyke* und *Folch* naß verbrannt. Die entstandene Kohlensäure wurde mit Natronlauge aufgefangen und mit Bariumion gefällt. Aus dem erhaltenen Bariumkarbonat, das auch längere Zeit gelagert werden kann, wurde schließlich die Kohlensäure mit Säure wieder in Freiheit gesetzt und — ohne Zumischung von Fremdgasen — zur Füllung eines Gas-*Geiger*-Zählrohres verwendet[10]. Da die Meßausbeute mit diesem Gerät nicht weit unter 100% liegt, können selbst sehr geringe Aktivitäten, wie sie tatsächlich bei den meisten vorliegenden Versuchen herrschen, noch gemessen werden. In der Regel wurde jede Probe einmal 16 Min. gemessen, das Zählrohr also bloß einmal gefüllt. In einer Anzahl von Fällen wurde die Füllung und Messung jedoch mehrmals durchgeführt, dann wurden die arithmetischen Mittel der Einzelwerte eingesetzt.

Zur Auswertung wurde vorsichtigerweise angenommen, daß unter den gegebenen Meßbedingungen nur Aktivitäten sicher nachweisbar und daher signifikant sind, wo die gemessene Stoßzahl den Leerwert von 47 bis 67 Stöße pro Min. (je nach dem verwendeten Zählrohr) um mindestens vier Stöße übertrifft; diese Schätzung zieht einerseits die statistische Schwankung von Aktivität der Probe und Leerwert, anderseits auch die Möglichkeit von Unsicherheiten bei der Messung in Betracht. Aktivitäten von drei oder weniger wurden daher in Tabelle 1 als „Null" eingezeichnet; in Wirklichkeit mögen manche dieser Aktivitäten reell gewesen sein.

Ergebnisse.

Die Werte für die spezifischen Aktivitäten in Tabelle 1 sind die unmittelbar gemessenen experimentellen Werte nach Abzug des Leerwertes, wenn die Füllung des Zählrohres bis zum Normaldruck erfolgte. Wenn der Fülldruck anderseits vom Normaldruck abwich, so wurde auf Normaldruck umgerechnet. Eine Normalfüllung entspricht 8,57 mg Kohlenstoff.

Außer den in Tabelle 1 genannten Organen wurden in einigen Fällen auch andere Organe gemessen, nämlich Knochen (Femur) und Haut, doch wurde in ihnen keine Aktivität gefunden.

Um die Darstellung der Ergebnisse übersichtlicher zu gestalten, sind in Tabelle 2 die jeweils in bestimmten Zeitintervallen liegenden Zahlenwerte der Tabelle 1 zu Mittelwerten zusammengezogen.

---

[10] *G. Rohringer* und *E. Broda*, Z. Naturforsch. 8 b, 159 (1953).

Tabelle 1. Spezifische Aktivitäten des Kohlenstoffs in den Organen.

Versuch Nr.	Zeit nach Fütterung (Stdn.)	Organ						
		Leber	Niere	Blut	Milz	Lunge	Skelett-muskel	Hirn
23	2	23	25	14	19	35	11	—
24	2	25	28	17	18	19	9	4
25	2	45	19	29	9	25	7	10
26	6	38	36	40	18	22	14	—
27	6	37	39	29	62	45	7	14
28	6	80	43	46	21	38	10	18
1	10	40	64	38	14	—	—	5
2	10	54	26	28	28	—	—	5
21	10	58	82	40	17	28	30	12
22	10	160	93	63	44	36	22	—
3	24	32	19	29	16	10	7	0
19	24	32	35	58	16	15	0	15
20	24	31	33	25	10	48	8	16
5	48	12	16	37	12	11	0	5
11	48	10	7	8	9	18	4	4
12	48	13	12	18	5	16	5	0
17	72	14	7	55	9	15	0	0
18	72	14	13	41	0	13	10	0
8	75	13	5	25	5	12	0	0
9	93	9	5	22	0	15	8	0
10	120	8	5	10	0	12	0	0
32	168	—	—	0	—	—	—	—
29	240	8	8	8	0	0	0	—
13	264	6	7	34	0	7	0	—
14	264	0	17	7	0	7	0	—
16	360	0	0	12	0	9	0	—
15	408	0	7	—	0	4	0	—
33	456	—	—	5	—	—	—	—
30	840	—	—	0	—	—	—	—
6	888	0	0	—	0	6	0	0
7	984	0	6	—	0	0	0	0

Aus den in Tabellen 1 und 2 zusammengefaßten spezifischen Aktivitäten lassen sich die Gesamtaktivitäten der Organe berechnen, wenn die Kohlenstoffmengen in diesen Organen bekannt sind. Diese Kohlenstoffmengen wurden durch Multiplikation der Organgewichte mit ihren Kohlenstoffgehalten berechnet. Werte dieser Kohlenstoffgehalte, die allerdings am Menschen bestimmt worden waren, wurden der Literatur[11] entnommen. Es ergeben sich die Werte der Tabelle 3. Der Einfachheit halber sind nur die Ergebnisse zur Zeit der maximalen Aufnahme an Radiokohlenstoff (6 und 10 Stdn.) angeführt. Das Gewicht des Blutes

[11] *H. Vierordt*, Anatomische, physiologische und physikalische Daten und Tabellen. Jena. 1888.

Tabelle 2. Mittelwerte der spezifischen Aktivitäten.

Versuch Nr.	Zeit nach Fütterung (Stdn.)	Organ						
		Leber	Niere	Blut	Milz	Lunge	Muskel	Hirn
23, 24, 25	2	31	24	20	15	26	9	7
26, 27, 28	6	52	39	38	34	35	10	16
1, 2, 21, 22	10	78	66	42	26	32	26	7
3, 19, 20	24	32	29	37	14	24	5	10
5, 11, 12	48	12	12	21	9	15	3	3
8, 17, 18	72—75	14	8	40	5	13	3	0
9, 10, 32	93, 120, 168	9	5	11	0	13	4	0
29, 13, 14	240—264	5	11	16	0	5	0	—
15, 16, 33	360—456	0	3	8	0	6	0	—
30, 6, 7	840—984	0	3	—	0	3	0	0

Tabelle 3. Gesamtaktivitäten der Organe.

Organ	Mittleres Organgewicht (g)	Normalkohlenstoffgehalt (%)	Mittlere Kohlenstoffmenge im Organ (mg)	Mittlere spezifische Aktivität pro mg C und Min.	Gesamtaktivität pro Min.
a) Nach 6 Stdn.					
Leber	6,08	15,9	970	6,1	5900
Niere.....	0,50	8,7	43	4,6	200
Blut	16,67	11,5	1900	4,4	8400
Milz.....	0,55	12,1	67	4,0	270
Lunge ...	1,54	10,7	160	4,1	660
Muskel ...	86,7	11,7	10000	1,2	12000
Hirn	1,12	12,6	140	1,9	270
b) Nach 10 Stdn.					
Leber	4,91	15,9	780	9,1	7100
Niere.....	0,67	8,7	58	7,7	450
Blut	10,57	11,5	1200	4,9	5900
Milz.....	0,31	12,1	37	3,0	110
Lunge ...	1,52	10,7	160	3,7	600
Muskel ...	69,5	11,7	8100	3,0	24000
Hirn	0,96	12,6	120	0,82	100

wurde mit $^1/_{13}$, das der Muskulatur mit $^2/_5$ des Körpergewichtes eingesetzt.

Da das an jede Ratte verfütterte Buttergelb eine Gesamtaktivität von 555000 min^{-1} aufwies, erkennt man durch Vergleich mit Tabelle 3, daß der beobachtete Höchstgehalt der Leber im Mittel nur etwa 1,3% des gesamten, dem Tier zugeführten Radiokohlenstoffs betrug. In Experimenten mit Buttergelb, das mit schwerem Stickstoff markiert worden war, wurde eine Aufnahme durch die Leber in etwas kleinerem

Ausmaß gefunden[12]. Der Höchstgehalt einer Niere (10 Stdn.) beträgt im Mittel 0,08, der Milz (6 Stdn.) 0,05, der Lunge (6 Stdn.) 0,01, der Muskeln (10 Stdn.) 4,3, des Gehirns (6 Stdn.) 0,05 und des Blutes (6 Stdn.) 1,5%. Damit erhebt sich die Frage nach dem Verbleib der Hauptmenge des Radiokohlenstoffs.

Zur Feststellung dieses Verbleibes wurden fallweise Aktivitätsbestimmungen an verschiedenen Wandabschnitten des Verdauungstraktes, am Inhalt des Magen-Darmkanals sowie an Harn, Faeces und der Atemluft vorgenommen. Diese Bestimmungen sind naturgemäß weniger exakt als jene an den Organen der Tiere. Es ergab sich jedoch einwandfrei, daß die Hauptmenge des Radiokohlenstoffs den Körper mit dem Harn verläßt, ein Ergebnis, das damit im Einklang steht, daß auch schwerer Stickstoff aus markiertem Buttergelb hauptsächlich durch den Harn ausgeschieden wird[12].

Die Aktivität der ausgeatmeten Kohlensäure wurde acht Stunden nach Fütterung an einem Tier bestimmt. Es wurde keinerlei meßbare Aktivität festgestellt. Daraus ergibt sich, daß äußerstenfalls ein verschwindender Bruchteil des Radiokohlenstoffs mit der Atemluft den Körper verlassen haben kann. Dieses Ergebnis steht in interessantem Kontrast zu den Befunden früherer Autoren (siehe [5]), die nach Markierung des Buttergelbs an der Methylgruppe einen Hauptteil des Radiokohlenstoffs in der Atemluft fanden.

Die Bestimmungen am Inhalt des Verdauungstraktes ergaben, daß der Mageninhalt nach 24 Stdn. nur mehr wenige Prozent der Aktivität aufweist, die er 10 Stdn. nach der Fütterung hatte und daß nach 48 Stdn. keine Aktivität mehr nachweisbar ist. Auch der Dünndarminhalt ist nach 24 Stdn. nur mehr wenig aktiv, während die Aktivitäten der Dickdarminhalte nach 10 und nach 24 Stdn. ähnlich sind; 48 und 72 Stdn. nach der Fütterung findet sich im Dickdarminhalt nur mehr wenig Aktivität. Während aber die Aktivität von Magen und Dünndarm entsprechend dem physiologischen Resorptionsgefälle im Inhalt stets höher ist als in der Wand, um schließlich in beiden nach 48 Stdn. zu verschwinden, fällt im Falle des Dickdarms auf, daß hier in den ersten 2 Tagen zunächst ebenfalls ein gleiches Verhalten nachweisbar ist, dann aber am 3. Tag eine Umkehr stattfindet und jetzt bei 2 angestellten Versuchen die Werte in der Dickdarmwand höher liegen als gleichzeitig im Dickdarminhalt (Tier 17: spezifische Aktivität im Dickdarminhalt 16, in der Dickdarmwand 110; Tier 18: spezifische Aktivität im Dickdarminhalt 0, in der Dickdarmwand 30).

Die nähere Untersuchung des Blutes ergab, daß die Aktivität aus dem Blutplasma relativ rasch verschwindet, in den Erythrocyten aber

---

[12] *M. Berenbom* und *J. White*, J. Nat. Cancer Inst. **12**, 583 (1951).

lange nachweisbar bleibt und hier weniger mit dem Hämoglobin, mit den lipoiden Blutschatten vergesellschaftet ist. Daß gerade die Blutkörperchen Aktivität festhalten, ist schon früher bei Versuchen mit 3′-Methyl-^{14}C-dimethylamino-azobenzol festgestellt worden (siehe [5]).

Wurde die Öllösung von Buttergelb in vitro einer 10%igen Aufschwemmung von Hammelerythrocyten zugesetzt, wiederholt geschüttelt und wurden nach 2 Tagen die Erythrocyten gewaschen und hämolysiert, so ergaben die Blutschatten ebenfalls eine Radioaktivität.

Ein orientierender, unter gleichen Bedingungen wie bei den Ratten durchgeführter Versuch mit Meerschweinchen ergab 2 Tage nach der Fütterung eine relativ hohe Aktivität in der Galle bei noch höherer Aktivität in den Blutschatten und sehr geringer Aktivität im Serum.

Diskussion.

Die Einzelwerte, die die Grundlagen der Tabellen 1 bis 3 bilden, streuen natürlich in erheblichem Maße. Diese Streuung ist wohl einerseits auf die biologische Variabilität des Versuchsmaterials (unter anderem hatten die Tiere verschiedenes Gewicht und Alter), anderseits auf eine Verschiedenheit des weiter unten noch zu besprechenden Blutgehaltes der Organe zurückzuführen. Im ganzen ist aber die Glätte der Kurven, die den zeitlichen Verlauf der Aktivität der einzelnen Organe wiedergeben, doch bemerkenswert.

Zunächst ist festzustellen, daß der Hauptteil des Radiokohlenstoffs bei der hier verwendeten Dosierung durch einmalige Gabe innerhalb der ersten zwei Tage aus dem Verdauungskanal aufgenommen wird. Er verläßt den Körper hauptsächlich mit dem Harn, in viel geringerem Maße mit Galle und Stuhl, wobei aus dem Dickdarm vom dritten Tag nach Fütterung ebenfalls eine Ausscheidung stattfinden dürfte.

Der relative Gehalt der einzelnen Organe (spezifische Aktivität ihres Kohlenstoffs) ist in den ersten Tagen nicht sehr verschieden. So bleibt z. B. die Niere kaum hinter der Leber zurück. Die Aktivität aller Organe nimmt mit der Zeit überraschend schnell ab, doch zeigen unsere Versuche, daß das Blut eine Ausnahme bildet.

Da die spezifische Aktivität des Blutes besonders hoch ist, und zwar über einen längeren Zeitraum, muß wohl ein bedeutender Teil der Aktivitäten der Organe auf ihren Blutgehalt zurückgeführt werden. Daher dürften auch die Aktivitäten des Gehirns, des Muskels und der Lunge zum Großteil durch den Blutgehalt verursacht sein, wobei beim Gehirn und der Lunge zu berücksichtigen ist, daß beim Töten der Tiere durch Nackenschlag Parenchymblutungen unvermeidbar sind.

Die hohe Aktivität des Blutes steht offenbar mit dem hohen Buttergelbgehalt des Blutes im Zusammenhang, da ein solcher nach chemischen

Methoden[5, 6] nachgewiesen worden ist. Dabei fällt aber besonders auf, daß das Blut noch zu einer Zeit eine relativ hohe Aktivität aufweist, wenn Resorption, Transport und Ausscheidung des zugeführten Buttergelbs oder seiner Abbauprodukte bereits als abgeschlossen angesehen werden können. Dieser Befund läßt die Möglichkeit eines nach erfolgter massiver Ausscheidung des Buttergelbs in der Folge durch längere Zeit wiederholt auftretenden Stimulus der Milz und vor allem der Leber durch Produkte des Erythrocytenunterganges zu. Für Zusammenhänge dieser Art spricht das frühzeitige Auftreten von Milzvergrößerung nach fortgesetzter Buttergelbfütterung[5, 6]. Sollte dies zutreffen, so wäre wohl zu erwarten, daß bei noch empfindlicherer Messung der Aktivität in der Leber durch längere Zeiträume minimale Aktivitäten nachweisbar sind.

Es wäre aber anderseits auch denkbar, daß das Buttergelb in der Leber Störungen hervorruft, die selbständig weiterwirken, nachdem es selbst oder seine Abbauprodukte die Leber endgültig verlassen haben. Einen solchen Mechanismus könnte man formell mit jenem der Krebsentstehung durch Strahlung vergleichen. Auch in diesem Falle bleibt ja das krebserzeugende Agens selbst, also die Strahlung, nicht im Gewebe erhalten.

Ob der eine oder der andere Mechanismus zutrifft, soll durch weitere Versuche geprüft werden. In diesem Zusammenhang muß natürlich auch untersucht werden, ob Radiokohlenstoff, durch den das Buttergelbmolekül an anderer Stelle markiert ist, ähnliches Verhalten im Stoffwechsel zeigt wie der in den vorliegenden Versuchen verwendete Radiokohlenstoff.

Wir danken der *Sonnleitner*-Stiftung der Österreichischen Akademie der Wissenschaften und der Österreichischen Gesellschaft zur Erforschung und Bekämpfung der Krebskrankheit für großzügige finanzielle Unterstützung. Wir sprechen auch dem *Damon-Runyon*-Fonds für Krebsforschung für ein wertvolles Stipendium an das I. Chemische Laboratorium unseren Dank aus, während dessen Laufzeit diese Arbeit abgeschlossen wurde. Schließlich sind wir Herrn Professor Dr. *H. Chiari* und Herrn Professor Dr. *L. Ebert* für ihr tatkräftig förderndes Interesse an dieser Arbeit und Herrn *Richard Stark* für wertvolle aktive Mitarbeit bei den langwierigen Messungen zu Dank verpflichtet.

Das Verhalten von 2-Aminopyridin und 2,6-Diaminopyridin gegenüber Dicarbonsäureanhydriden*.

Von

L. Schmid und **H. Mann.**

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 28. April 1954.)

Gesättigte und ungesättigte aliphatische Dicarbonsäureanhydride sowie das Phthalsäureanhydrid reagieren mit 2-Aminopyridin und auch mit dem 2,6-Diaminopyridin in guter Ausbeute unter Bildung von Amidsäuren.

Das Verhalten von aliphatischen und aromatischen Aminen gegenüber Dicarbonsäureanhydriden ist bereits an zahlreichen Beispielen untersucht worden[1–5]. Ab 1934 findet man auch Mitteilungen über entsprechende Untersuchungen am 2-Aminopyridin (I) und am 2,6-Diaminopyridin (II)[6–11].

Uns war die Frage von Interesse, ob I gegenüber den ungesättigten dienophilen Dicarbonsäureanhydriden Maleinsäure- und Citraconsäureanhydrid analog dem Anilin, also als primäres Amin oder im Sinne seiner tautomeren Form als 2-Pyridonimid reagiert.

---

* Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zum 60. Geburtstag gewidmet.

[1] *R. Anschütz*, Ber. dtsch. chem. Ges. **20**, 3215 (1887).

[2] *K. Auwers*, Ann. Chem. **309**, 316 (1899).

[3] *Maier-Bode*, Das Pyridin und seine Derivate. 1934.

[4] *La Parola Guido*, Gazz. chim. ital. **64**, 919 (1934).

[5] *P. L. Paytash, E. Sparrow* und *J. C. Gathe*, J. Amer. Chem. Soc. **72**, 1415 (1950).

[6] *K. Feist* und *J. Schultz*, Arch. Pharmaz. **272**, 785 (1934).

[7] *G. B. Crippa* und *M. Long*, Gazz. chim. ital. **64**, 83 (1934).

[8] *E. Ott* und *F. Heß*, Arch. Pharmaz. **276**, 181 (1938).

[9] *G. Wanag* und *A. Veinbergs*, Ber. dtsch. chem. Ges. **75**, 1558 (1942).

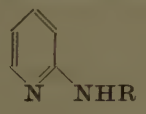
[10] *J. Bernstein* et al., J. Amer. Chem. Soc. **69**, 1151 (1947).

[11] *G. Brooke Hoey* und *T. Lester*, J. Amer. Chem. Soc. **73**, 4473 (1951).

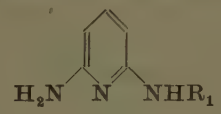
Schon der erste Versuch einer Umsetzung von I mit Maleinsäureanhydrid in absolut-benzolischer Lösung ließ keinen Zweifel darüber, daß die Reaktion eine Acylierung ist und daß das Reaktionsprodukt die 2-Pyridylmaleinamidsäure (III) darstellt, wie durch folgendes Beweismaterial sichergestellt werden konnte:

1. Durch quantitative Analysen. 2. Die Titration von III läßt *eine* Carboxylgruppe im Molekül erkennen; dieses Carboxyl ist durch Diazomethan nicht methylierbar. 3. Durch verdünnte Laugen wird III an der Amidbindung unter Bildung von I und Maleinsäure gespalten; auffallend ist die Leichtigkeit, mit der die Amidspaltung erfolgt. 4. Die quantitative Bildung von III bestätigt die eindeutige Richtung dieser Reaktion.

In analoger Weise reagierte Citraconsäureanhydrid unter ausschließlicher Bildung von 2-Pyridyl-citraconamidsäure; dabei waren die Isomeren IVa bzw. IVb zu erwarten. Tatsächlich war nur *eine* Verbindung entstanden, soweit ein solcher Schluß aus dem Verhalten bei der Schmelzpunktsbestimmung allein gezogen werden darf. Es wurde nicht weiter geprüft, welche Formel diesem Isomeren zuzuordnen ist.



I



II

I und II: $R = R_1 = H$

III: $R = —CO—CH=CH—COOH$

IVa und IXa: $R = R_1 = —CO—C(CH_3)=CH—COOH$

IVb und IXb: $R = R_1 = —CO—CH=C(CH_3)—COOH$

V und X: $R = R_1 = —CO—CH_2—CH_2—COOH$

VII und XIII: $R = R_1 = —CO—C_6H_4—COOH$ (ortho)

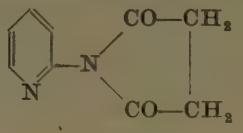
Wenn auch von Haus aus die Bildung eines trans-Isomeren nicht zu erwarten ist, so sei in diesem Zusammenhang erwähnt, daß zufolge Beobachtungen an *Stuart*-Modellen sowohl für die cis- wie auch für die trans-Form die räumlichen Voraussetzungen zur leichten Bildung innerer Salze gegeben wären.

Bemerkenswert erscheint, daß beim Vereinigen von Citraconsäureanhydrid wie auch von Maleinsäureanhydrid mit I in indifferenten, wasserfreien Lösungsmitteln intensive Orange- bis Rotfärbung auftritt. Vgl. in diesem Zusammenhang die von *P. Pfeiffer* und *Th. Böttler* entwickelten Vorstellungen[12] zur Erklärung des Auftretens einer Farbigkeit.

[12] *P. Pfeiffer* und *Th. Böttler*, Ber. dtsch. chem. Ges. **51**, 1819 (1918).

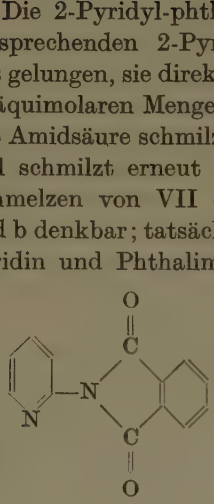
In Lösung zeigen beide Amidsäuren intensiv blaue Fluoreszenz, welche durch Spuren von Alkali verstärkt, durch verd. Säuren nahezu gelöscht wird.

In weiterer Verfolgung dieser Reaktion wurde I mit Bernsteinsäureanhydrid und Phthalsäureanhydrid in Lösung umgesetzt. Die ausgeprägte Neigung zur Bildung von Amidsäuren zeigte sich an der selbst bei Raumtemperatur in kurzer Zeit erfolgten nahezu quantitativen Umsetzung. So entsteht beim Vereinigen von molaren Mengen von I und Bernsteinsäureanhydrid in Dioxan die 2-Pyridyl-succinamidsäure V. Analyse, Äquivalentgewichtstitration und das Ergebnis der Laugenspaltung stehen in Übereinstimmung mit dieser Formel. Schließlich konnte aus V durch Essigsäureanhydridbehandlung quantitativ das 2-Pyridyl-succinimid VI dargestellt werden.

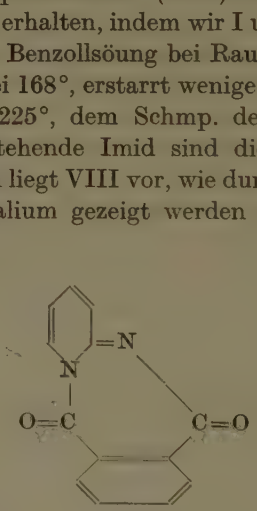


VI

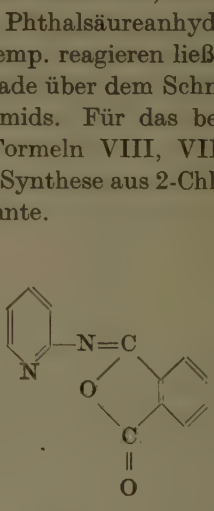
Die 2-Pyridyl-phthalamidsäure (VII) ist als Verseifungsprodukt des entsprechenden 2-Pyridylphthalimids (VIII) bereits bekannt[6]; es ist uns gelungen, sie direkt zu erhalten, indem wir I und Phthalsäureanhydrid in äquimolaren Mengen in Benzollsöung bei Raumtemp. reagieren ließen. Die Amidsäure schmilzt bei 168°, erstarrt wenige Grade über dem Schmp. und schmilzt erneut bei 225°, dem Schmp. des Imids. Für das beim Schmelzen von VII entstehende Imid sind die Formeln VIII, VIIIa und b denkbar; tatsächlich liegt VIII vor, wie durch Synthese aus 2-Chlorpyridin und Phthalimidkalium gezeigt werden konnte.



VIII



VIII a



VIII b

Der Versuch, das UV-Spektrum von VIII in alkoholischer Lösung aufzunehmen, um es mit dem Spektrum des Phthalimids vergleichen zu können, scheiterte an der Tatsache, daß sich das Absorptionsgebiet während der Messung allmählich nach kürzeren Wellenbereichen ver-

schob. Es ist anzunehmen, daß dieser Effekt analog zu deuten ist wie dies *Bergmann*[13] für Phthalsäureanhydrid getan hat; danach addiert Phthalsäureanhydrid 1 Mol Alkohol hemiacetalartig, wodurch eine Verschiebung des Spektrums nach kürzeren Wellen hin verursacht wird.

In einer folgenden Versuchsreihe wurden Dicarbonsäureanhydride mit II zur Reaktion gebracht.

Mit Citraconsäureanhydrid setzt sich II in Dioxanlösung bereits bei Raumtemp. fast quantitativ zur 6-Amino-2-pyridyl-citraconamidsäure um. Es wurde nur eines der möglichen Isomeren (IXa bzw. b) gefunden, soweit man dies aus dem Schmelzpunktsverhalten folgern darf. Welches der beiden möglichen Isomeren vorliegt, wurde im besonderen nicht geprüft. Ähnlich wie bei der Reaktion mit I tritt auch hier beim Vermischen der Lösungen der Reaktionspartner starke Orangefärbung auf. Die wäßrigalkoholische Lösung von IXa bzw. IXb fluoresziert deutlich blau.

Beim Reaktionsansatz von *zwei* Mol Citraconsäureanhydrid mit *einem* Mol von II in Lösung konnte keine Diamidsäure gefunden werden.

Bei der Hochvakuumsublimation von IXa bzw. IXb entsteht in schlechter Ausbeute eine einheitlich aussehende zitronengelbe Substanz, die sich ab 350° zersetzt; sie ist zufolge Analyse als 6-Amino-2-pyridyl-citraconimid anzusehen, wurde aber aus Substanzmangel nicht weiter untersucht.

Die Umsetzung von II mit Bernsteinsäureanhydrid im molaren Verhältnis 1 : 1 und 1 : 2 liefert bei Raumtemp. und folgendem mäßigen Erwärmen in nahezu quantitativer Ausbeute die 6-Amino-2-pyridyl-succinamidsäure (X); die beobachteten Eigenschaften decken sich mit den von *J. Bernstein*[10] beschriebenen. Spurenweises Auftreten von Nebenprodukt erlaubte nicht den Schluß auf eine Bildung von Diamidsäure.

Das 2,6-Disuccinimido-pyridin (XI) entstand in guter Ausbeute durch Zusammenschmelzen von II mit 2 Mol Bernsteinsäureanhydrid bei maximal 150°.

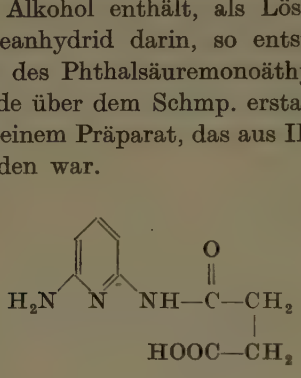
Crippa und *Long*[7] haben das 2,6-Diphthalimidopyridin mit der Absicht, Amidsäuren zu erhalten, ohne Erfolg alkalisch hydrolysiert. Somit schied dieses bei der Darstellung von VII angewandte Verfahren aus. Nach unseren bisherigen Erfahrungen war es wahrscheinlich, daß auch Phthalsäureanhydrid mit II in einem indifferenten Lösungsmittel primär Amidsäuren bilden müßte, welche erst nach längeren Reaktionszeiten in das bekannte 2,6-Diphthalimidopyridin XII übergehen. Tatsächlich fällt nach Vereinigung der heißen Xylollösungen von II und Phthal-

---

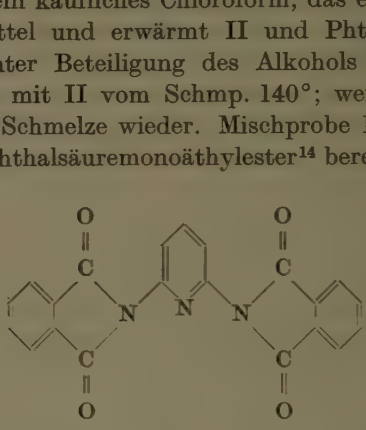
[13] *Y. Hirshberg, D. Lavie* und *E. D. Bergmann*, J. Chem. Soc. London **1951**, 1030.

säureanhydrid spontan ein Niederschlag aus, der in Natriumbicarbonatlösung fast vollständig löslich ist und als 6-Amino-2-pyridyl-phthalamidsäure (XIII) erkannt wurde. Aus den Mutterlaugen von XIII konnte auch das Monohydrat desselben isoliert werden. Beide Verbindungen geben beim Erhitzen über den Schmp. das bereits bekannte XII. Obwohl, rein formelmäßig betrachtet, auch die Diamidsäure zu erwarten wäre, konnte trotz variierter Versuchsbedingungen nur die Monoamidsäure (XIII) gewonnen werden.

Verwendet man aber statt Xylol ein käufliches Chloroform, das etwa 1% Alkohol enthält, als Lösungsmittel und erwärmt II und Phthalsäureanhydrid darin, so entsteht unter Beteiligung des Alkohols das Salz des Phthalsäuremonoäthylesters mit II vom Schmp. 140°; wenige Grade über dem Schmp. erstarrt die Schmelze wieder. Mischprobe 140° mit einem Präparat, das aus II und Phthalsäuremonoäthylester[14] bereitet worden war.



X



XII

Experimenteller Teil.

2-Pyridyl-malein-amidsäure (III).
(Nach Versuchen von *Karl Gründig*.)

Zu 0,3 g (I), gelöst in 4 ml Benzol, läßt man unter Kühlung 0,3 g in Benzol gelöstes Maleinsäureanhydrid zutropfen. Die ausgefallenen Kristalle werden nach $^1/_2$ Std. abgesaugt und mit absol. Äther und Benzol von eventuell noch vorhandenem Ausgangsmaterial befreit. Ausbeute 0,56 g.
$C_9H_8O_3N_2$. Ber. C 56,24, H 4,16, N 14,58. Äquiv.-Gew. 192.

Gef. C 56,10, H 4,62, N 14,35, 14,20. Äquiv.-Gew. 191,5, 191,8.

2-Pyridyl-citraconamidsäure (IVa bzw. IVb).

Zu 310 mg (I) (3,3 mMol) in 4 ml absol. Benzol wurden 370 mg (3,3 mMol) Citraconsäureanhydrid, verdünnt mit 3 ml absol. Benzol, tropfenweise bei Raumtemp. zugefügt. Die Lösung färbte sich intensiv orange; nach 2 Stdn. wurden 600 mg eines gelben Pulvers abgesaugt und durch Digerieren mit Benzol und absol. Methanol von Ausgangssubstanz befreit. Schließlich wurde in wenig dest. Wasser gelöst, mit Aktivkohle entfärbt und im Vak. bei zirka 20° eingeengt. Farblose kleine Würfel werden abgesaugt und mit absol.

---

[14] *J. F. Goggans* jr. und *J. E. Copenhaver*, J. Amer. Chem. Soc. **61**, 2909 (1939).

Alkohol gewaschen. Die Kristalle sind unlöslich in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln, leicht lösl. in Wasser und zersetzen sich bei ungefähr 264°.

$C_{10}H_{10}O_3N_2$. Ber. C 58,23, H 4,89, N 13,59. Äquiv.-Gew. 206,09.
Gef. C 58,52, H 5,02, N 13,35. Äquiv.-Gew. 204,2, 206,5.
Molgew. in Wasser kryosk. 206,1, 207,0.

2-Pyridylsuccinamidsäure (V).

310 mg (I) (3,3 mMol) wurden in 4 ml absol. Benzol gelöst und mit einer Lösung von 330 mg Bernsteinsäureanhydrid (3,3 mMol) in 25 ml absol. Benzol vereinigt. Nach 1 Std. wurde noch kurz auf dem Wasserbad erhitzt. Kristalle wurden abgesaugt und wenig noch vorhandenes Ausgangsmaterial durch Extraktion mit Benzol und Dioxan entfernt. Das Reaktionsprodukt trug man in $NaHCO_3$-Lösung ein und filtrierte von wenig Ungelöstem. Nach vorsichtigem Zusatz von verd. Salzsäure bis zum Neutralpunkt fällt V aus und kristallisiert aus Wasser in verfilzten farblosen Nadeln vom Schmp. 184°.

$C_9H_{10}O_3N_2$. Ber. C 55,64, H 5,19, N 14,43. Äquiv.-Gew. 194,09.
Gef. C 56,01, H 5,32, N 14,38. Äquiv.-Gew. 194,2, 192,3.

2-Pyridyl-succinimid (VI).

325 mg V wurden 30 Min. mit 5 ml Essigsäureanhydrid am Rückflußkühler erhitzt; nach Abdampfen des Essigsäureanhydrids blieben 295 mg farbloser Substanz, die bei 180°/10 mm Badtemp. destilliert. Schmp. 136° (aus Xylol-Ligroin). VI ist in Methanol, Chloroform, Benzol und Wasser gut löslich.

$C_9H_8O_2N_2$. Ber. C 61,37, H 4,58. Gef. C 61,15, H 4,58.

2-Pyridyl-phthalamidsäure (VII).

310 mg (I) (3,3 mMol), gelöst in 4 ml absol. Benzol, wurden mit 500 mg (3,3 mMol) frisch geschmolzenem Phthalsäureanhydrid, gelöst in 15 ml absol. Benzol, bei Raumtemp. vereinigt. Nach 1 Std. wurde noch kurz auf dem Wasserbad erhitzt und heiß abgesaugt. Ausbeute 720 mg feine Nadeln. Geringe Mengen noch vorhandenen Ausgangsmaterials eluierte man mit heißem Benzol. Die Substanz schmilzt scharf bei 168°, erstarrt wenige Grade über dem Schmp. und schmilzt erneut bei 225°.

$C_{13}H_{10}O_3N_2$. Ber. C 64,43, H 4,16, N 11,57. Gef. C 65,16, H 4,34, N 11,42.

2-Pyridyl-phthalimid (VIII) durch Synthese nach Gabriel.

2-Chlorpyridin wurde aus I nach *Tschitschibabin*[15] dargestellt. Sdp. 167 bis 168°, das Phthalimidkalium aus Phthalimid[16].

2,4 g Phthalimidkalium (0,013 Mol) und 1,45 g 2-Chlorpyridin (0,013 Mol) wurden im Bombenrohr 22 Stdn. zuletzt bis 280° Badtemp. erhitzt, der Inhalt mit Wasser und Chloroform in einen Scheidetrichter gebracht und mit Chloroform ausgeschüttelt. Der Extrakt wurde mit n NaOH gewaschen und mit Na_2SO_4 getrocknet. Bei 12 mm wurde wenig Chlorpyridin abdestilliert

[15] *A. Tschitschibabin* und *M. Rjasanzew*, J. russ. phys. chem. Ges. **47**, 1571; Chem. Zbl. **1916 II**, 228.
[16] *Houben*, Bd. IV, S. 366. 1941.

und der harzige Rückstand aus Benzol umgelöst; das Kristallisat sublimiert bei 180°/12 mm Badtemp. in kubischen, stark lichtbrechenden Kristallen Schmp. 225°, Mischprobe 225°. Das Vergleichsmaterial war nach [6] dar gestellt.

6-Amino-2-pyridyl-citraconamidsäure (IXa bzw. IXb).

360 mg (II) (3,3 mMol), in 5 ml Dioxan gelöst, werden mit 370 mg (3,3 mMol), gelöst in 1 ml Dioxan, vereinigt; die Lösung färbt sich orange-rot und nach wenigen Minuten fiel ein hellgelber Niederschlag aus. Nach 1 Std. werden 700 mg Rohprodukt abgesaugt und mit heißem Methanol vom Ausgangsmaterial befreit. Die Amidsäure zersetzt sich bei 290°. Unlöslich in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln, mäßig löslich in Wasser.

$C_{10}H_{11}O_3N_3$. Ber. C 54,28, H 5,02. Äquiv.-Gew. 221,1.
Gef. C 54,19, H 5,11. Äquiv.-Gew. 222,2, 218,3.

6-Amino-2-pyridyl-citraconimid.

Kleine Mengen (etwa 50 mg) IXa bzw. IXb wurden im Hochvak. auf 220 bis 230° im Kugelrohr erhitzt. Dabei sublimiert ein geringer Teil, während sich die Hauptmenge zersetzt. Das gelbe Sublimat aus 6 solchen Ansätzen reichte für eine Analyse; gelbe, mikrokristalline Nadeln, in Wasser mit blauer Fluoreszenz löslich. Zersetzung bei etwa 350°.

$C_{10}H_9O_2N_3$. Ber. C 59,09, H 4,47, N 20,69. Gef. C 59,09, H 3,90, N 20,75

2,6-Disuccinimido-pyridin.

550 mg II (5 mMol) und 1 g Bernsteinsäureanhydrid (10 mMol) im Ölbad 2 Stdn. auf 150° erhitzen. Bei der Acetonbehandlung der erkalteten Schmelze bleiben 250 mg einer farblosen Substanz ungelöst, die aus Benzol-Methanol in Blättchen, aus Eisessig in Nadeln kristallisiert. Schmp. 260 bis 265°. Diese Fraktion wurde nicht weiter untersucht.

Die Acetonlösung wurde eingedampft und geringe Mengen Ausgangsmaterials absublimiert. Die Hauptmenge war selbst im Hochvak. bei 200° nicht flüchtig; sie gab nach 6maligem Umkristallisieren aus Eisessig farblose Blättchen vom Schmp. 279 bis 280°. Sie ist schwer bis unlösl. in Äthanol, Benzol, Xylol, Chloroform; in der Hitze lösl. in Eisessig, Essigsäureanhydrid und Wasser.

$C_{13}H_{11}O_4N_3$. Ber. C 57,12, H 4,06, N 15,38. Gef. C 56,00, H 4,01, N 15,42

6-Amino-2-pyridyl-phthalamidsäure (XIII).

Die heißen Lösungen von 3 g (0,02 Mol) Phthalsäureanhydrid in 60 ml Xylol und 1,1 g (0,01 Mol) (II) in 45 ml Xylol wurden vereinigt. Es fielen 2,25 g einer schwach gelb gefärbten Substanz aus, die abgesaugt, mit absol. Alkohol gewaschen und dann in der Mindestmenge kaltgesättigter Bicarbonat-lösung gelöst wurde. Nach Filtrieren von wenig Ungelöstem wird mit 2 n Salzsäure neutralisiert. Rohausbeute 900 mg Amidsäure, die nach mehrfachem Umfällen bei 127° schmilzt.

$C_{13}H_{11}O_3N_3$. Ber. C 60,68, H 4,31. Äquiv.-Gew. 257,1.
Gef. C 59,53, H 4,43. Äquiv.-Gew. 259,6, 257.

Die wäßr. Filtrate der Rohfällung von XIII wurden im Vak. eingeengt. Es schied sich das Monohydrat von (XIII) aus, das nach mehrfachem Umfällen bei 140° schmilzt. Über den Schmp. erhitzt, wird es wie auch XIII wieder fest und schmilzt nicht unter 340°.

$C_{13}H_{13}O_4N_3$. Ber. C 56,70, H 4,76. Gef. C 56,82, H 4,89.

Salz von II mit dem Phthalsäuremonoäthylester.

A. 360 mg II und 500 mg Phthalsäureanhydrid wurden in käuflichem Chloroform (zirka 1% Alkohol) gelöst und 3 Stdn. erhitzt. Nach Einengen im Vak. Kristalle, die nach mehrfachem Umlösen aus Chloroform bei 140° schmelzen. Die Schmelze erstarrt wenige Grade höher und schmilzt nicht unter 340°. Das gleiche Salz entsteht auch bei der Reaktion obiger Partner in absol. Alkohol.

$C_{15}H_{17}O_4N_3$. Ber. C 59,38, H 5,65, N 13,86.
Gef. C 59,56, 59,41, H 5,81, 5,76, N 13,88.

B. 550 mg II werden in 30 ml absol. Chloroform gelöst und mit 1 g Phthalsäure-monoäthylester[14] in 3 ml absol. Chloroform versetzt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vak. bleibt ein viskoses Öl, das nach Animpfen mit einem Kristall aus Ansatz A rasch kristallisiert. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Chloroform feine, farblose Nadeln vom Schmp. 140°. Mischprobe mit dem Salz aus Ansatz A: 140°.

Die Mikroanalysen wurden von Herrn Dr. *G. Kainz* im Mikroanalytischen Laboratorium des II. Chemischen Institutes ausgeführt.

Zur Kenntnis der Brenztraubensäure*.

VIII. Mitteilung: Zur Kenntnis des alkalischen Zuckerabbaues

Von

E. Waldmann, V. Prey und F. Jelinek.

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Wien.

(Eingelangt am 29. April 1954.)

Das Verhalten der Brenztraubensäure und ihrer Kondensationsprodukte Ketovalerolaktocarbonsäure und Parabrenztraubensäure im alkalischen Medium wird untersucht und eine neue Konstitutionsformel der Parabrenztraubensäure angegeben.

Während die große Bedeutung der Brenztraubensäure als Zwischen- bzw. Endprodukt beim Abbau der Kohlehydrate im biochemischen Geschehen eindeutig feststeht, ist ihre Herkunft und ihre Rolle beim alkalischen Zuckerabbau umstritten[1, 2].

Bei unseren Arbeiten über das Verhalten des Glycerinaldehyds und Dioxyacetons im alkalischen Milieu[3] konnten wir papierchromatographisch das Auftreten von BTS (Brenztraubensäure) ziemlich eindeutig feststellen. Gleichzeitig traten aber dabei auch Substanzen auf, deren R_f-Werte mit den R_f-Werten von Stoffen übereinstimmten, die wir bei der alkalischen Behandlung von BTS unter denselben Bedingungen erhielten. Wir konnten daher annehmen, daß diese Stoffe Umwandlungs- bzw. Kondensationsprodukte der BTS sind.

Nun ist seit langer Zeit bekannt[4–6], daß die BTS schon bei längerem Stehen besonders in wäßriger Lösung bei gewöhnlicher Temperatur

* Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zum 60. Geburtstag gewidmet.

[1] *C. Neuberg*, Biochem. Z. **49**, 502 (1913).

[2] *R. Nodzu* und *R. Goto*, Bull. Chem. Soc. Japan **15**, 209 (1940).

[3] *V. Prey, E. Waldmann, H. Berbalk* und *F. Ludwig*, Mh. Chem. **84**, 55 (1953).

[4] *C. Voelkel*, Ann. Chem. **89**, 57 (1854).

[5] *C. Boettinger*, Ann. Chem. **172**, 241, 258 (1874); **188**, 293 (1877); **208** 122 (1880).

[6] *C. Finck*, Ann. Chem. **122**, 182 (1862).

mehr noch aber im alkalischen Milieu, namentlich in der Wärme, verschiedene Säuren, wie Ketovalerolactocarbonsäure (KVL), Parabrenztraubensäure (PBTS), Methyldihydrotrimesinsäure, Uvitinsäure und Brenzweinsäure, ergibt, die wir in der Folge nach Literaturangaben herstellten.

Reine BTS wurde durch wiederholtes Destillieren im Vak. bei 10 Torr und 59,5 bis 60,5° gewonnen.

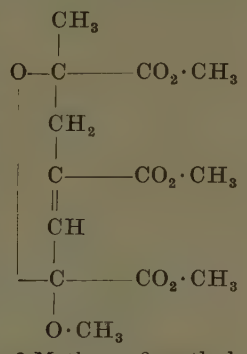
Die von *L. Wolf*[7] beschriebene KVL (I) gewannen wir aus den Destillationsrückständen der BTS.

Die Methyldihydrotrimesinsäure (II), die Uvitinsäure (III), die Brenzweinsäure (IV) und die PBTS (V) stellten wir ebenfalls nach den Angaben von *L. Wolf*[7] dar. Während nun über die Konstitutionsformel der obgenannten Kondensationsprodukte der BTS (I bis IV) kein Zweifel besteht, konnten wir für die PBTS (V) keinerlei genaue Angaben über deren Konstitution finden. *L. Wolf*, welcher der PBTS in seiner ersten Arbeit eine Formel zuordnete, widerrief diese später in einer zweiten Arbeit.

Da die nach Literaturangaben dargestellte PBTS (V) stets sehr unrein ist, kann sie für eine Konstitutionsbestimmung nicht verwendet werden. Wir ermittelten daher ihre Konstitutionsformel über einen ihr nahestehenden Methylester, der sich gut in vollkommen reiner Form herstellen ließ.

Trockenes, parabrenztraubensaures Blei, nach *Wolf* hergestellt, wird mit methylalkohol. Salzsäure verestert (siehe exper. Teil). Beim Destillieren des rohen Esters erhält man bei 11 Torr 2 Fraktionen (140 bis 183° und 183 bis 202°), aus denen sich Kristalle abscheiden, die nach erfolgter Reinigung bei 90° schmelzen.

Die Bruttoformel dieser Verbindung ist im Hinblick auf die Elementaranalyse und das Molgewicht $C_{13}H_{18}O_8$. Sie enthält in Hinblick auf die Verseifungszahl drei mit Methylalkohol veresterte Carboxylgruppen, jedoch insgesamt (Methoxylzahl!) vier Methoxyle. Da außerdem der aktive Wasserstoff gleich Null ist, das heißt keine offene OH-Gruppe vorhanden ist, und die Hydrierzahl für eine olefinische Doppelbindung im Molekül spricht, so besitzt der Ester offenbar die nebenstehende Konstitutionsformel.



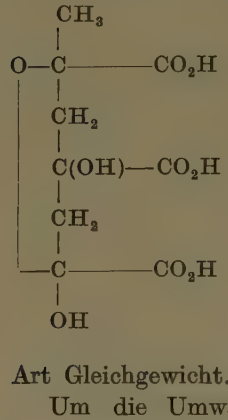
2-Methoxy-6-methyl-2,4,6-tricarbomethoxy-pyran-dihydrid-(5,6)

Der Körper ist also aus 3 Molekülen Brenztraubensäure, die sich aldolartig kondensiert haben, aufgebaut, wobei die noch verbliebene freie

[7] *L. Wolf*, Ann. Chem. **305**, 125 (1899); **317**, 1 (1901).

OH- und Ketogruppe sich acetalartig binden. Damit in Einklang steht auch der Befund, daß die Substanz mit Ketonreagenzien, z. B. Dinitrophenylhydrazin, keinen Niederschlag gibt. Die Doppelbindung ist der ehemaligen Ketogruppe benachbart und erscheint uns in dieser Lage wahrscheinlicher, als wenn sie um eine Stufe verschoben wäre.

Die Parabrenztraubensäure selbst nimmt bei der Hydrierung keinen Wasserstoff auf, sie hat daher noch die OH-Gruppe und besitzt offenbar die nebenstehende Formel.



Die Säuren (I bis IV) wurden solange gereinigt, bis die papierchromatographischen Untersuchungen das Vorliegen einheitlicher Substanzen aufzeigten, deren R_f-Werte unter den von uns gewählten Bedingungen[3] festgehalten wurden. Die PBTS (V) konnte vorläufig nicht von ihren Begleitstoffen befreit werden.

Es ist als wahrscheinlich anzunehmen, daß zumindest die Säuren I und V, die im alkalischen Milieu aus BTS entstehen, umgekehrt auch zu BTS rückgespalten werden; es besteht also eine Art Gleichgewicht.

Um die Umwandlung der BTS im alkalischen Milieu in ihre Kondensationsprodukte und die Rückbildung aus diesen verfolgen zu können, war es notwendig, eine zuverlässige quantitative Schnellbestimmungsmethode der BTS zu entwickeln.

Unter den in der Literatur bekannten quantitativen Bestimmungsformen kennen wir Oxydations-[8], Reduktionsmethoden[9], jodometrische[10], chromatographische[11], polarographische[12], kolorimetrische[13], titanometrische[14] und gravimetrische[15] Verfahren.

---

[8] *W. H. Hatcher* und *A. C. Hill*, Trans. Roy. Soc. Canada (3) **22**, 111, 212 (1928). — *C. A. Bunton*, Nature **163**, 444; Chem. Zbl. **1950 I**, 1834. — *Th. Wieland* und *A. Franke*, Ann. Chem. **457**, 38 (1937). — *C. Fromageot* und *P. Desmelle*, Biochem. Z. **279**, 174 (1935). — *P. Fleury* und *S. Boisson*, C. r. acad. sci., Paris **204**, 1264 (1937).

[9] *B. H. Krishna* und *M. Sreenivasaya*, Biochemic. J. **22**, 1169 (1930). — *W. B. Wendel*, J. Biol. Chem. **94**, 717 (1932); **102**, 47 (1933).

[10] *A. Fernbach* und *M. Schön*, C. r. acad. sci., Paris **170**, 765 (1920). — *G. Klein* und *W. Fuchs*, Biochem. Z. **213**, 52 (1929). — *Th. Wieland*, Ann. Chem. **406**, 233 (1924). — *W. Franke*, ibid. **457**, 38 (1927). — *E. Haag* und *Ch. Dalphin*, Helv. Chim. Acta **26**, 246 (1943). — *F. P. Clift* und *R. P. Cook*, Biochemic. J. **26**, 1788 (1933).

[11] *H. H. Strain*, J. Amer. Chem. Soc. **57**, 758 (1935). — *J. D. Roberts* und *Ch. Green*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **18**, 335 (1946). — *J. W. H. Lugg* und *B. T. Overell*, Austral. Res., Ser. A **1**, 98 (1948). — *Th. Wieland* und *E. Fischer*, Naturwiss. **36**, 219 (1950). — *V. Prey, E. Waldmann, F. Ludwig* und *H. Berbalk*, Mh. Chem. **83**, 1344 (1952).

Da wir bei der alkalischen Behandlung der BTS damit rechnen mußten, die BTS in einem Gemisch verschiedener carbonylhaltiger Verbindungen zu bestimmen, erschienen uns die Methoden am zweckmäßigsten, bei denen die BTS zuerst z. B. als Hydrazon gefällt wird und dann auf Grund der vorhandenen Carboxylgruppe das isolierte Hydrazon der BTS spezifisch erfaßt werden kann.

Schon *L. Simon* und *L. Piaux*[16] fällten BTS mit Phenylhydrazin oder frisch bereitetem 4-Br-phenylhydrazin in schwach saurer Lösung und titrierten das mit Wasser gewaschene Hydrazon mit Natronlauge und Phenolphthalein als Indikator. Später verwendeten *St. Veibel* und *V. Hauge*[17] p-Hydrazino-benzoesäure zur Fällung der BTS und titrierten nach Umkristallisieren des Hydrazids aus Alkohol mit Barytlauge und Phenolphthalein (Genauigkeit $^1/_2$ bis 1%).

Bei beiden Verfahren wird das aufgeschlämmte Hydrazon titriert, was nicht sehr angenehm ist. Verwendet man NaOH als Reagens, so tritt eine starke Rotfärbung ein, die ein Erkennen des Umschlagspunktes erschwert; Barytlauge als Titerflüssigkeit hat den Nachteil der Unbeständigkeit.

Uns erschien besonders das in der Literatur[15] wiederholt erwähnte 2,4-Dinitrophenylhydrazin als Abscheidungsreagens geeignet, da es gestattet, auch geringste Mengen von BTS quantitativ zu erfassen. Es wurde daher schon zur quantitativen kolorimetrischen Bestimmung der BTS herangezogen, wobei das Hydrazon mit roter Farbe in NaOH gelöst wird.

Wir versuchten, das isolierte BTS-2,4-Dinitrophenylhydrazon in einem Überschuß von Alkali zu lösen und dann die BTS durch Rücktitration des Alkaliüberschusses quantitativ zu erfassen. Das Verhalten des BTS-2,4-Dinitrophenylhydrazons in alkalischem Medium zeigte (Tabelle 1), daß Ätzalkalien das Hydrazon stark verändern bzw. zerstören; es wurde daher von uns 0,1 n Sodalösung verwendet und der Überschuß der Sodalösung mit n/30 HCl auf den Umschlagspunkt von Methylorange potentiometrisch zurücktitriert.

---

[12] *I. A. Korshunov, Z. B. Kuznetsova* und *M. K. Shchennikova*, Fiz. Khim. **23**, 1292 (1949). — *T. Santovy*, Bull. soc. chim. biol. **31**, 1221 (1949).

[13] *E. M. Case*, Biochemic. J. **26**, 753 (1933). — *G. D. Lu*, ibid. **33**, 249 (1939). — *E. Kirberger*, Klin. Wschr. **27**, 48 (1950).

[14] *F. Ludwig, E. Waldmann* und *V. Prey*, Mh. Chem. **83**, 1352 (1952).

[15] *C. Neuberg* und *M. Kobel*, Biochem. Z. **216**, 495 (1929). — *Cl. F. H. Allan*, J. Amer. Chem. Soc. **52**, 2955 (1930). — *C. Neuberg* und *E. Simon*, Biochem. Z. **233**, 479 (1931). — *A. P. Sunner* und *M. Farran*, ibid. **287**, 113 (1936). — *Tsotomu Shindo*, Z. physiol. Chem. **251**, 285 (1939).

[16] *L. Simon* und *L. Piaux*, Bull. soc. chim. biol. **6**, 480 (1924).

[17] *St. Veibel* und *V. Hauge*, Bull soc. chim. France (5) **5**, 1806 (1939).

Tabelle 1.

BTS-Dinitrophenylhydrazon wurde in Alkali gelöst, auf 50 bzw. 100° $^1/_2$ bzw. 1 Std. erhitzt, mit HCl wieder gefällt und die Menge sowie Schmp. und Säurezahl des wiedergewonnenen Hydrazons bestimmt.

Einwaage Hydrazon in g	Alkali 5 Äquival.	Einwirkungsdauer/h	Temp. °C	Hydrazon nach Wiederfällung in g (%)	Schmp. (Theor. 218°)	SZ. (Theor. 209,9)	Farbe
0,1263	0,5 n NaOH	1	50	0,0833 (66)	168—182	166,1	braun
0,1235	0,5 n NaOH	$^1/_2$	100	0,0386 (31,3)	—	—	—
0,1428	0,5 n Na_2CO_3	1	50	0,1404 (98,3)	218	208,4	gelb
0,1298	0,5 n Na_2CO_3	$^1/_2$	100	0,1005 (77,5)	198—212	188,5	ocker

Auf diese Weise konnten vollkommen einwandfreie Ergebnisse (Tabelle 2 und 3) erzielt werden, wie auch eine gravimetrische Überprüfung zeigte. Die Spezifität der Methode gegenüber anderen Carbonylverbindungen zeigt Tabelle 4. Wir konnten also jetzt in einem alkalischen Reaktionsgemisch den wahren Gehalt an BTS einwandfrei quantitativ bestimmen und damit einerseits die durch Kondensationsreaktionen verbrauchte BTS, anderseits die aus den Kondensationsprodukten, wie KVL, PBTS, durch alkalische Einwirkung wiederentstandene BTS ermitteln.

Tabelle 2.

Beleganalysen zeigen die obere und untere Grenze der Methode.

BTS, eingewogen in g	Gefunden in g
0,0200	0,0195
0,0150	0,0150
0,0100	0,0100
0,0073	0,0072
0,0059	0,0060
0,0039	0,0039
0,0006	0,0005

Tabelle 3.

Um die Genauigkeit der Methode bezüglich der minimalen BTS-Konzentration festzustellen, wurden je 1 ccm einer 1%igen BTS-Lösung (0,01 g) auf folgende Weise mit Wasser verdünnt:

Verdünnung d. 1%igen Lösung	1 ccm d. Lösung BTS in g	Gefunden BTS in g
1 : 1	0,005	0,010
1 : 10	0,001	0,0099
1 : 250	0,00004	0,0098

Aus den durchgeführten Versuchen (Tabellen 6 bis 11) geht hervor, daß im alkalischen Milieu BTS besonders bei höheren Alkalikonzentrationen sowohl bei Zimmertemperatur über längere Zeit (15 Tage) als auch bei 100° C während 1 Std. bis zu 80% abgebaut bzw. umgewandelt wird. Ebenso werden KVL (I) und PBTS (V) unter ähnlichen Bedingungen ihrerseits teilweise in BTS zurückverwandelt.

Die papierchromatographische Untersuchung der Reaktionsgemische ergab in allen Fällen das Auftreten einer Substanz mit dem R_f-Wert 0,06

Tabelle 4.

Die Zahlen geben die Mengen Carbonylverbindungen in g an, die als Gemisch den Versuchen 1 bis 9 verwendet wurden; die letzte Reihe die gefundene BTS g.

Versuchs-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Methyl-glyoxal ..	0,0054	0,0069	0,0056	0,0126	0,0043	0,0069	0,0043	0,0022	0,0044
Glycerin-aldehyd .	0,0071	0,0015	0,0062	0,0028	0,0049	0,0013	0,0037	0,0047	0,0030
Acetol.....	0,0177	0,0081	0,0034	0,0020	0,0067	0,0171	0,0062	0,0026	0,0056
Dioxy-aceton ..	0,00	0,00	0,0016	0,0018	0,0020	0,0015	0,0028	0,0066	0,0020
Ascorbin-säure....	—	0,00	0,0044	0,00	—	—	—	—	—
Milchsäure .	0,00	0,00	0,0337	0,0240	—	—	—	—	—
Brenztrau-bensäure.	0,0100	0,0079	0,0036	0,0034	0,0006	0,0017	0,0021	0,0018	0,0055
Gefundene BTS	0,0108	0,0084	0,0034	0,0032	0,0004	0,0018	0,0024	0,0020	0,0060

Das Entstehen dieses Körpers aus BTS im alkalischen Milieu steht außerhalb jeden Zweifels. Er ist aber nach dem R_f-Wert nicht identisch mit einer der bis jetzt bekannten und von uns in dieser Arbeit untersuchten kondensierten Säuren (I bis V) aus BTS.

Da bei der Behandlung von Hexosen, Pentosen und Triosen im alkalischen Milieu in allen Fällen ebenfalls eine Substanz mit dem R_f-Wert 0,06 entsteht, kommt diesem Stoff eine ganz besondere Bedeutung beim alkalischen Zuckerabbau zu.

Über die Identifizierung dieser Substanz und die durchgeführten papierchromatographischen Untersuchungen der Reaktionsgemische von BTS im alkalischen Milieu werden wir in Kürze berichten.

Tabelle 5. Überprüfung der Haltbarkeit von wäßr. BTS-Lösung unter Luft- und Lichtausschluß (in Quarzgefäßen).

Verwendet wurde eine 1%ige wäßr. Lösung, deren Gehalt nach 2, 7, 9 und 15 Tagen acidimetrisch mit 0,1 n Na_2CO_3 und als 2,4-Dinitrophenylhydrazon (wie oben beschrieben) bestimmt wurde.

Zeit Tage	BTS gefunden in g acidimetrisch	als Hydrazon
0	0,0095	0,0086
2	0,0093	0,0084
7	0,0092	0,0084
9	0,0092	0,0084
15	0,0092	0,0083

Experimenteller Teil.

Veresterung der Parabrenztraubensäure.

Parabrenztraubensaures Blei, das einige Stunden bei 65° an der Luft getrocknet wurde (67 g), wird in einem Kolben mit 250 g absol. Methyl-

Tabelle 6. Verhalten der BTS, KVL und PBTS im alkalischen Milieu.

Es wurde jeweils 1 Mol BTS mit $^1/_2$, 1, 3 und 5 Molen eisgekühlter 1 n NaOH vermischt und 15 Tage bei Zimmertemp. stehengelassen. Nach 2, 7, 9 und 15 Tagen wurde die BTS nach oben entwickelter Methode als 2,4-Dinitrophenylhydrazon bestimmt.

Zeit Tage	BTS gefunden in g als Hydrazon	%	Zeit Tage	BTS gefunden in g als Hydrazon	%
Mit $^1/_2$ Mol 1 n NaOH.			Mit 1 Mol 1 n NaOH.		
0	0,1284	—	0	0,0708	—
2	0,1280	99,7	2	0,0708	100,0
7	0,1260	98,4	7	0,0664	93,8
9	0,1256	98,1	9	0,0664	93,8
15	0,1200	93,7	15	0,0640	90,4
Mit 3 Mol 1 n NaOH.			Mit 5 Mol 1 n NaOH.		
0	0,0060	—	0	0,0055	—
2	0,0055	91,7	2	0,0035	63,6
7	0,0040	66,7	7	0,0024	43,6
9	0,0029	48,3	9	0,0022	40,0
15	0,0011	18,3	15	0,0009	16,4

Tabelle 7.

KVL wurde zuerst mit 0,5 n NaOH auf pH = 9 eingestellt und dann mit 4 Äquival. 0,5 n NaOH bzw. 0,5 n Na_2CO_3 versetzt und 15 Tage bei Zimmertemp. stehengelassen. Nach 2, 8, 10 und 15 Tagen wurde die BTS als 2,4-Dinitrophenylhydrazon bestimmt.

Zeit Tage	0,5 n NaOH. BTS in % d. einges. KVL	0,5 n Na_2CO_3 BTS in % d. einges. KVL
0	11	0
2	33,2	7,8
8	37,5	34,0
10	40,0	44,3
15	28,3	37,8

Tabelle 8.

1 Mol PBTS aus dem Bleisalz einerseits und dem Bariumsalz anderseits wurde jeweils mit 12 Mol 0,5 n NaOH versetzt und 15 Tage bei Zimmertemp. belassen. Nach 2, 8, 10 und 15 Tagen wurde mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin versetzt und das gefällte Hydrazon mit 0,1 n Na_2CO_3 titriert.

Zeit Tage	Aus d. Bleisalz. BTS in % d. einges. PBTS	Aus dem Bariumsalz. BTS in % d. einges. PBTS
0	6,6	3,1
2	19,8	16,3
8	25,3	19,4
10	46,2	28,7
15	5,5	3,9

alkohol übergossen, 150 g Methylalkohol mit HCl-Gas ziemlich gesättigt (23%ig an HCl) zugegeben, geschüttelt, etwa 70 bis 80 Stdn. auf Siedetemp. erhitzt, vom $PbCl_2$ abfiltriert, mit wäßr. Sodalösung in mäßigem Überschuß versetzt und der Alkohol größtenteils im Vak. abdestilliert. Die Rückstandslösung wird mehrmals mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit konz. Pottaschelösung gewaschen und dann mit fester Pottasche getrocknet. Die

hellgelbe ätherische Lösung wird mit Aktivkohle aufgehellt, der Äther verdampft. Rückstand = 16 g, die zwischen 11 und 12 Torr destilliert werden.

I. Fraktion (— 140°); dünnflüssig 1,0 g.
II. Fraktion (140 bis 183°); etwas viskos 5,8 g.
III. Fraktion (183 bis 202°); viskos 6,9 g.

Aus den beiden letzteren Fraktionen kristallisiert der Ester „A", der nach Waschen mit Methylalkohol und mehrmaligem Umkristallisieren daraus bei 90° schmilzt. Ausbeute an krist. Ester: 4,0 g. In den ölig verbliebenen Anteilen ist noch etwas Ester enthalten, der erst nach längerem Stehen zu kristallisieren beginnt.

Tabelle 9.

1 Mol BTS wurde mit 1 n NaOH und 1 n Na_2CO_3 1 Std. auf 100° erhitzt und wie oben aufgearbeitet.

Verwend. Alkali	Einges. Mole	BTS in g	
		Einwaage	gef. als Hydrazon (% d. Einwaage)
NaOH	1/2	0,1762	0,1262 (71,6)
NaOH	1	0,0881	0,0168 (19,1)
NaOH	3	0,0293	0,0052 (17,8)
NaOH	5	0,0176	0,0030 (17,1)
Na_2CO_3....	5	0,0176	0,0176 (100)

Tabelle 10.

KVL wurde mit 4 Äquival. 0,5 n NaOH bzw. 0,5 n Na_2CO_3 1/2 Std. auf 100° bzw. 1 Std. auf 50° erhitzt. Nachher wurde die sich bildende BTS als Dinitrophenylhydrazon gefällt und quantitativ bestimmt; auch die Reinheit des gebildeten Hydrazons wurde durch Schmp. und Säurezahl überprüft.

Alkali	Reaktionsbedingungen	Eingesetzte KVL in %	BTS gefunden in g (% der Ausgangsmenge)	Säurezahl theor. 209,1 (Schmp. d. Hydrazons)
NaOH	1/2 Std. 100°	0,1120	0,1015 (92,4)	208,9 (216—218°)
Na_2CO_3....	1/2 „ 100°	0,0954	0,0885 (92,8)	209,7 (214—217°)
NaOH	1 „ 50°	0,0842	0,0687 (81,5)	209,3 (218°)
Na_2CO_3....	1 „ 50°	0,0707	0,0157 (22,2)	— —

Tabelle 11.

PBTS wurde mit 4 Äquival. 0,5 n NaOH bzw. 0,5 n Na_2CO_3 1/2 Std. auf 100 bzw. 1 Std. auf 50° erhitzt. Nachher wurde die sich bildende BTS als Dinitrophenylhydrazon gefällt und quantitativ bestimmt; auch die Reinheit des gebildeten Hydrazons wurde durch Schmp. und Säurezahl überprüft.

Alkali	Reaktionsbedingungen	Eingesetzte PBTS in	BTS gefunden in g (% der Ausgangsmenge)	Säurezahl theor. 209,1 (Schmp. d. Hydrazons)
Na_2CO_3....	1/2 Std. 100°	0,1006	0,0195 (19,4)	209,1 (216—218°)
NaOH	1/2 „ 100°	0,1088	0,0275 (25,3)	209,1 (217°)
Na_2CO_3....	1 „ 50°	0,0877	0,0044 (5,0)	209,1 (214—218°)
NaOH	1 „ 50°	0,1157	0,0170 (14,7)	209,1 (215—218°)

$C_{13}H_{18}O_8$. Ber. C 51,68, H 5,96, CH_3O 41,0. Mol.-Gew. 302.
Gef. C 52,3, 51,8, H 6,10, 6,02, OCH_3 41,3, 41,2. Mol.-Gew. kryoskop. in Dioxan 298.

Verseifungszahl ber. für 3 CH_3O 556, gef. 524.
Hydrierzahl ber. für 1 Doppelbindung 69,2, gef. 60,0.
Aktiver H ber. 0, gef. 0 in der Hitze und bei gewöhnlicher Temp.

Darstellung der Säuren I bis V und der Brenztraubensäure.

(Nähere Angaben werden nur dann gegeben, wenn die Darstellung von den Literaturangaben abweicht[7].)

Brenztraubensäure: 50 ccm BTS Merck wurden aus einer Schliffapparatur mit *Widmer*-Spirale bei 10 Torr und zwischen 59,5 bis 60,5° 4mal destilliert. Das Destillat war wasserklar und hatte einen Schmp. von 13,0° (Literatur 13,6°). Eine papierchromatographische Reinheitsprüfung ergab das Vorliegen einer einheitlichen Substanz mit dem R_f-Wert 0,20.

Chromatographiert wurde absteigend auf Schleicher & Schüll-Papier Nr. 2043 b mit Cyclohexanol-Pyridin-Wasser wie 5 : 3 : 3, entwickelt wurde mit m-Phenylendiamin.

Parabrenztraubensäure: Zu einer 10%igen Lösung von BTS wurde eine Lösung von Bleiacetat (25%ige Lösung) im Überschuß zugesetzt und über Nacht stehengelassen. Am nächsten Tage wurde das gebildete Bleisalz der PBTS abfiltriert und bleifrei gewaschen. Den so erhaltenen Niederschlag versetzten wir mit einem Unterschuß von verd. Schwefelsäure, filtrierten vom Bleisulfat ab und dampften das Filtrat bis zur Sirupkonsistenz im Vak. ein. Die letzten Spuren von Wasser entfernten wir durch Trocknen im Exsikkator über P_2O_5. Wir erhielten gelbe Kristalle, die bei 97° unscharf schmelzen.

Eine papierchromatographische Untersuchung wie oben zeigte das Vorhandensein von BTS ($R_f = 0{,}20$), PBTS ($R_f = 0{,}11$) und eine Substanz mit $R_f = 0{,}06$. Die Substanz konnte vorläufig nicht weiter gereinigt werden.

Das Zerlegen des Pb-Salzes mit H_2S nach *Wolf*[7] ist nicht empfehlenswert, da die PBTS mit schwefelhaltigen Verbindungen verunreinigt wird.

Ketovalerolactocarbonsäure: Die sirupösen Destillationsrückstände von der Reindarstellung der BTS wurden gesammelt und einige Zeit sich selbst überlassen. Nach einigen Tagen beginnt die zähe Masse zu kristallisieren. Der Kristallbrei wurde auf Tonteller gebracht und dort mit Benzol mehrmals gewaschen. Die noch gelblichen Kristalle zeigten einen Schmp. von 104°. Es wurde dann mehrere Male aus wasserfreier Ameisensäure umkristallisiert. Die so gewonnene KVL schmolz scharf bei 118°.

Die papierchromatographische Untersuchung ergab das Vorliegen einer einheitlichen Substanz mit dem R_f-Wert 0,32.

Methyldihydrotrimesinsäure stellten wir nach *L. Wolf*[7] her, sie hatte einen Schmp. von 250°, ihr R_f-Wert lag bei 0,37.

Die *Uvitinsäure* wurde ebenfalls nach obiger Literaturangabe erhalten; Schmp. 290°, $R_f = 0{,}44$.

Die *Brenzweinsäure* stellten wir ebenfalls nach *L. Wolf* dar; Schmp. 117° aus Benzol umkristallisiert, $R_f = 0{,}42$.

Schnellbestimmungsmethode der BTS.

Die Lösung, deren Gehalt 0,015 g Brenztraubensäure nicht übersteigen soll, wird mit einer frisch bereiteten $^1/_4$%igen Lösung von 2,4-

Dinitrophenylhydrazin in 2 n HCl im Überschuß versetzt. Nach kurzer Zeit beginnt unter Trübung der Flüssigkeit das Hydrazon auszufallen. Nach dem Absetzen des Niederschlages wird durch ein Papierfilter filtriert, der Niederschlag zuerst mit 2 n HCl und dann mit kaltem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorionenreaktion gewaschen. Das noch feuchte Filter wird in ein Becherglas gebracht und mit einer überschüssigen gemessenen Menge 0,1 n Sodalösung versetzt, worin der Niederschlag vollständig löslich sein soll. Mit derselben Sodamenge wird ein Blindversuch angesetzt.

Zuerst erfolgt die Titration des Blindversuches, dabei wird die Sodalösung auf 50 ccm verdünnt und mit n/30 HCl auf Methylorange als Indikator titriert.

Der pH-Wert des Umschlagpunktes wird potentiometrisch festgelegt (*Pehavi*-Instrument, Chinhydron-Kalomel), da der Neutralpunkt bei der Originalprobe durch die Färbung der Hydrazonlösung schlecht zu erkennen ist.

Darauf wird die soda-alkalische Lösung des BTS-Hydrazons in das Titriergefäß filtriert (Papierfasern) und auf 50 ccm verdünnt. Zuerst wird bis zum Umschlagspunkt von Phenolphthalein mit n/30 HCl neutralisiert, dann etwas Chinhydron zugesetzt und bis zum ermittelten pH-Endwert (Blindprobe) titriert.

Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, soll in 50 ccm der soda-alkalischen Endlösung nicht mehr Hydrazon enthalten sein als 0,015 g BTS entspricht; sonst kann Hydrazon ausfallen, und damit können Fehlwerte entstehen.

Über das 2-Dichlormethyl-oxazolin und seine Kondensation mit 4-Nitrobenzaldehyd*.

(Über Oxazole und Oxazoline, 1. Mitteilung.)

Von

H. Bretschneider, G. Piekarski und K. Biemann.

Aus dem Institut für Organische und Pharmazeutische Chemie der Universität Innsbruck.

(Eingelangt am 1. Juli 1954.)

N-Dichloracetyläthanolamin (I) wurde über das mit $SOCl_2$ erhaltene N-Dichloracetyl-β-chloräthylamin (II) durch Alkali in das 2-Dichlormethyl-oxazolin (III) übergeführt, dessen sehr leicht erfolgende hydrolytische Umwandlungen beschrieben werden. Kondensation von 4-Nitrobenzaldehyd mit (III) erfolgt ohne jedweden Katalysatorzusatz unter den mildesten Bedingungen an der überaus reaktiven Methingruppe des Dichlormethylrestes von (III) zu 2-[β-(4-Nitrophenyl)-β-oxy-α,α-dichloräthyl]-oxazolin (VI), dessen Konstitution an Hand eines O-Acetats und durch die saure Hydrolyse zu einer β-(4-Nitrophenyl)-α,α'-dichlorhydracrylsäure und Äthanolamin bewiesen wird.

Anlaß für diese Untersuchung war die Fragestellung, ob sich nicht in *einstufiger*, aldolähnlicher Kondensation solche Verbindungen gewinnen ließen, deren Gesamtstruktur und Oxydationszustand dem Chloramphenicol weitgehend ähnelt, und welche dann weiterhin durch einfache Maßnahmen, wie Hydrolyse und eventuelle Decarboxylierung in Chloramphenicol selbst überführbar wären. Als Komponenten solcher Kondensationsreaktionen wurden einerseits der 4-Nitrobenzaldehyd und anderseits eine vom Serin sich ableitende 2-Dichlormethyl-oxazolin-carbonsäure-(4) bzw. ihr Ester in Betracht gezogen. Weil für Serin eine, es leichter zugänglich machende Synthese[1] ausgearbeitet werden

* Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zum 60. Geburtstag gewidmet.

[1] *H. Bretschneider, N. Karpitschka* und *G. Piekarski*, Mh. Chem. 84, 1084 (1953).

mußte, sollte zunächst als billigere Modellsubstanz für den Oxazolinkörper das ebenfalls unbekannte 2-Dichlormethyl-oxazolin (III) dargestellt und auch in seinem Verhalten gegen 4-Nitrobenzaldehyd geprüft werden.

Synthese des 2-Dichlormethyl-oxazolin (III).

Bei der Synthese des 2-Dichlormethyl-oxazolins konnten Vorarbeiten von *Jones* und *Wilson*[2] benützt werden. Das nach diesen Autoren aus Äthanolamin und Dichloracetylchlorid gewonnene N-Dichloracetyl-äthanolamin (I) (Versuch 1) wurde mit unverdünntem Thionylchlorid in der *Hitze* in 92%iger Ausbeute in das N-Dichloracetyl-β-chlor-äthylamin (II) übergeführt (Versuch 2).

Thionylchlorid in der Kälte ergab ein kristallines Reaktionsprodukt, das, nach der Gewichtszunahme zu schließen, ein Chlorosulfinat vorstellen könnte. Die sehr labile Verbindung eignet sich nicht für die geplanten Umformungen. Verdünntes Thionylchlorid in der Wärme nach *Jones* und *Wilson* lieferte nur 42% an (II).

Der Ringschluß von (II) zum gesuchten Oxazolin (III) gelang am besten in Anlehnung an ein von *Goldberg*[3] für andere Oxazoline angegebenes Verfahren durch ganz kurzes Erwärmen von (II) mit wäßr.-alkohol. Lauge und Destillation des mit Äther isolierten Reaktionsproduktes (Versuch 3). Das in 59%iger Ausbeute bei 35 bis 40° Badtemp. und 0,4 Torr erhaltene, ölige 2-Dichlormethyl-oxazolin (III) gab korrekte Analysenwerte, erwies sich aber als hydrolytisch recht empfindliche Verbindung. So gibt (III) in ätherischer Lösung mit Pikrinsäure ein bei 157° (u. Zers.) schmelzendes Pikrat, dessen Analyse aber für das Vorliegen eines Hydrats oder des um ein Mol Wasser reicheren O-Dichloracetyl-äthanol-aminpikrats (IVa) spricht (Versuch 3c). Zur Entscheidung zwischen diesen Möglichkeiten wurde das O-Dichloracetyl-äthanolamin-hydrochlorid (IVb) durch Reaktion des Äthanolamins mit HCl-Gas gesättigter Dichloressigsäure und Dichloracetylchlorid (Salzacylierungsmethode[4]) dargestellt. Die bei 102° schmelzenden, in Wasser leicht löslichen Kristalle geben mit Natriumpikrat eine mit oben erwähntem Pikrat (IVb) idente Verbindung. Es tritt somit bei der in Äther erfolgten Pikratdarstellung des Dichlormethyl-oxazolins (oder zumindest bei sehr kurzem Lagern des Adduktes) bereits Hydrolyse zum O-Dichloracetyläthanolamin ein. In zu erwartender Acylwanderung O → N wurde aus dem Pikrat und Hydrochlorid des O-Dichloracetyl-äthanolamins durch Alkalibehandlung das N-Dichloracetyl-äthanolamin (I) erhalten (Versuche 3c und 4). Weitere Befunde für die

[2] *E. R. H. Jones* und *W. Wilson*, J. Chem. Soc. London **1949**, 551.
[3] *A. A. Goldberg* und *W. Kelly*, J. Chem. Soc. London **1948**, 1919.
[4] *H. Bretschneider*, Mh. Chem. **76**, 368 (1946).

leichte Hydrolysierbarkeit des 2-Dichlormethyl-oxazolins sind: Nach mehrtägigem Stehen und erneuter Destillation hinterbleiben als Destillationsrest zirka 8% N-Dichloracetyl-äthanolamin. Eine Suspension von (III) in Wasser ergibt nach 24 Stdn. bei 20° eine Lösung, die nur mehr N-Dichloracetylamin (I) enthält (Versuche 3a und 3b).

Kondensation von 2-Dichlormethyl-oxazolin (III) und 4-Nitro-benzaldehyd (V) zu 2-[β-(4-Nitrophenyl)-β-oxy-α,α-dichlor-äthyl]-oxazolin (VIa).

(III) und (V) reagieren unter denkbar mildesten Reaktionsbedingungen, ohne jedweden Katalysator in Methanollösung bei 20° unter Bildung einer bei 133 bis 135° schmelzenden Verbindung (Ausbeute 50 bis 60% d. Th.) (Versuch 5). Die Analyse des Kondensationsproduktes, die gut für eine Formel $C_{11}H_{10}O_4N_2Cl_2$ stimmende Werte ergab, zeigte, daß es aus (III) und (V) durch bloße Addition entstanden sein mußte; eine Doppelbindung ließ sich dementsprechend weder mit Tetranitromethan noch nach *Baeyer* nachweisen.

Für das Vorliegen eines (dichlormethylierten) Oxazolinsystems sprach das Verhalten gegen mäßig konzentrierte Salzsäure bei 20°, durch welche die Verbindung rasch in ein bei 200° (u. Zers.) schmelzendes Hydrochlorid verwandelt wurde, das in reinem Wasser leicht löslich war; Alkalisieren der wäßrigen Lösung des Hydrochlorids ergab eine ölige, ätherlösliche, chlorhaltige Verbindung, die keine basischen Eigenschaften mehr besaß. Diese nur qualitativ erhobenen Befunde entsprechen der hydrolytischen Öffnung eines Oxazolinringes zum O-Acylaminoalkanol-hydrochlorid und dessen Umwandlung in das N-Acylaminoalkanol, ganz analog, wie es in der Reaktionsfolge am Dichlormethyloxazolin selbst oben beschrieben wurde (III → IV → I) (Versuch (5a).

Zur Annahme der Konstitution (VIa) für das Kondensationsprodukt führt die Kombination folgender Befunde: Die Verbindung ist monoacetylierbar (Versuch 6); das der Formel $C_{13}H_{12}O_5N_2Cl_2$ entsprechende Acetylderivat (VIb) zeigt aber bei der sehr schonenden Acetylbestimmung nach *Kunz*[5] (0,01 n NaOH, 0°) nicht den Verbrauch von einem, sondern von 4 Äquivalenten Alkali. Dieses Verhalten steht in derartigem Widerspruch zu dem von Chloramphenicol bzw. dessen Acetylderivaten[6], daß damit schon das Vorliegen eines Phenylpropanskelettes sehr unwahrscheinlich wurde.

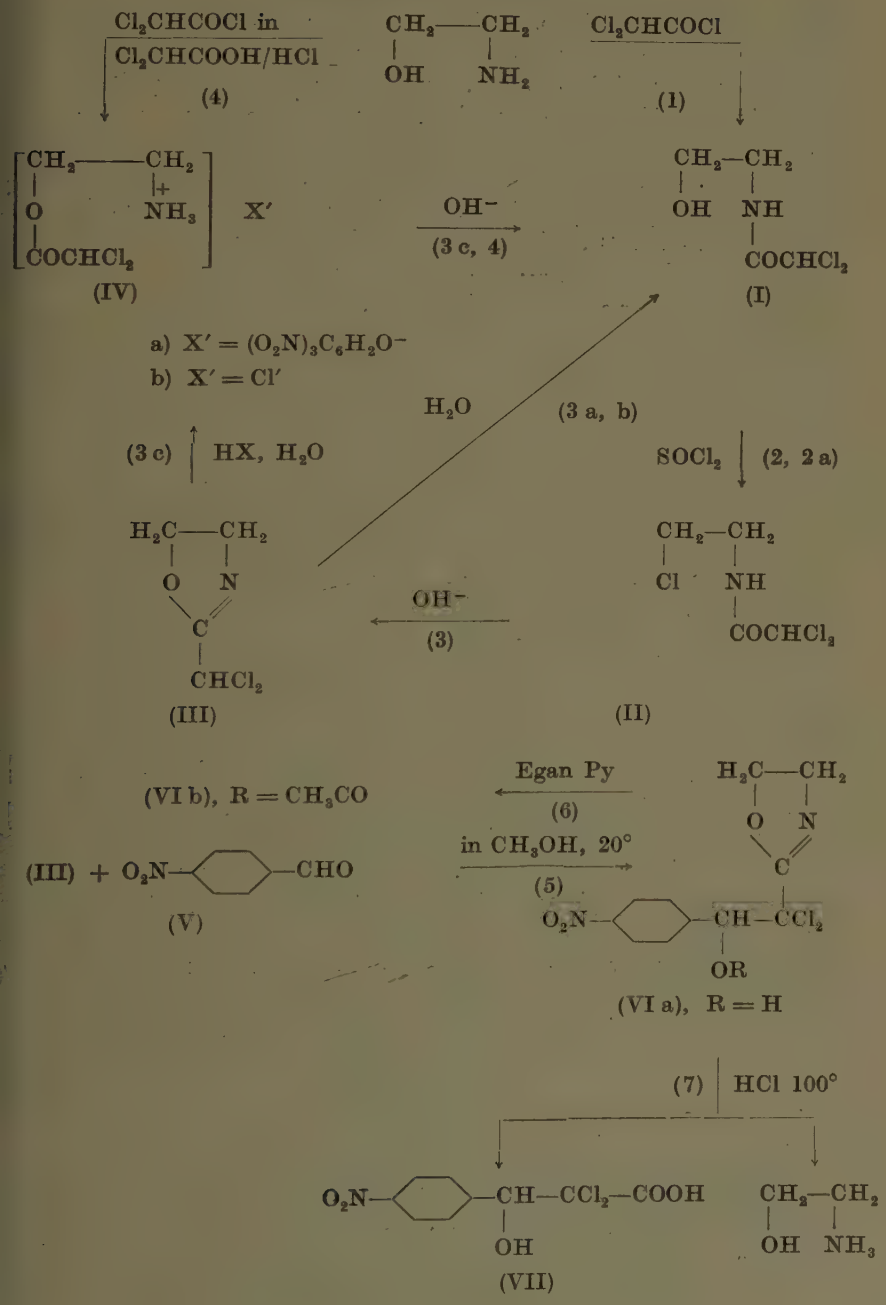
Den eindeutigen Beweis für die Konstitution von (VIa) erbrachte der eine von uns *(K. B.)* schließlich durch die heiße saure Hydrolyse

---

[5] *A. Kunz* und *C. S. Hudson*, J. Amer. Chem. Soc. 48, 1982 (1926).

[6] *M. C. Rebstock, H. M. Crooks, J. Controulis* und *Q. R. Bartz*, J. Amer. Chem. Soc. 71, 2461 (1949).

Formelübersicht.



dieser Verbindung (Versuch 7). Es wurde dabei eine sehr starke, äther lösliche Säure vom Schmp. 202° in sehr guter Ausbeute erhalten (VII) sowie aus den basischen Anteilen Äthanolamin, das als N-Benzoyl äthanolamin identifiziert wurde. In der starken Säure (VII) konnte qualitativ eine Nitrogruppe und Halogen nachgewiesen werden. Die potentiometrische Titration ergab ein Äquivalentgewicht von 282,6 Da nur ein einziger Potentialsprung auftritt, ist das Vorliegen einer einbasischen Säure ziemlich sicher. Im Einklang damit steht das Ergebnis der Elementaranalyse, die mit einer Verbindung der Bruttoformel $C_9H_7O_5NCl_2$ (MG = 280) — mit Ausnahme des zu hoch gefundenen Kohlenstoffwertes — gut übereinstimmt.

Unter Berücksichtigung der Bildungsbedingungen konnte es sich daher nur um die unbekannte β-(4-Nitrophenyl)-α,α'-dichlorhydracryl-säure (VII) handeln, womit auch der stark saure Charakter in Einklang steht. (Über eine Synthese dieser Säure auf anderem Wege soll in einer folgenden Mitteilung[7] berichtet werden.)

Auf Grund dieser Befunde ergibt sich für das Kondensationsprodukt die Formel eines 2-(β-4-Nitro-phenyl-β-oxy-α,α'-dichloräthyl)-oxazolins (VI). Der unerwartet hohe Verbrauch von 4 Äquivalenten Alkali bei der Acetylbestimmung am Acetylderivat (VIb) muß durch die hydrolytische Entstehung von 1 Mol Essigsäure, 1 Mol einer Carbonsäure und 2 Mol Salzsäure durch weitgehenden Molekülzerfall erklärt werden.

Die überaus hohe Kondensationsbereitschaft der Dichlormethin-gruppe in (III) darf wohl als überraschend bezeichnet werden und ist falls ein Übergang des Chloramphenicols in das Oxazolin in vitro statt finden kann, möglicherweise auch nicht ohne Bedeutung für den Wirkungsmechanismus von Chloramphenicol selbst. Jedenfalls sollen beide vom Chloramphenicol ableitbaren Dichlormethyloxazoline gleiche Aktivität wie dieses selbst zeigen[8]. An sich sind Kondensationsreaktionen von Polyhalogenmethinverbindungen mit Carbonylderivaten lang be kannt, bedürfen aber stärkster alkalischer Kondensationsmittel (vgl die Kondensation von Chloroform mit Aceton durch feste Kalilauge).

Über die Synthese des 2-Dichlormethyloxazolin-carbonsäure-4-ester soll in einer folgenden Mitteilung[9] berichtet werden.

Experimenteller Teil.

Versuche *G. Piekarski* (1 bis 6).

Versuch 1: N-Dichloracetyläthanolamin (I). (I) wurde nach *Jones* und *Wilson*[2] durch Umsatz von 1 Mol Dichloracetylchlorid[10] mit 2 Mol trockenem

[7] *H. Bretschneider* und *G. Sporidi*, Mh. Chem. **85** (1954), im Druck.
[8] Privatmitteilung.
[9] *H. Bretschneider* und *G. Piekarski*, Mh. Chem. **85** (1954), im Druck.
[10] *H. C. Brown*, J. Amer. Chem. Soc. **60**, 1325 (1938).

destillierten Äthanolamin in Chloroform-Essigester-Gemisch in 80%iger Ausbeute als bei 84 bis 86° schmelzende, aus Benzol umgelöste kristall. Verbindung erhalten.

Versuch 2: N-Dichloracetyl-β-chloräthylamin (II). Man versetzte in einem Rundkolben 504 mg umkristallisiertes (I) mit 0,85 ccm $SOCl_2$ (4 Mole), wobei (I) unter lebhafter Reaktion und Gasentwicklung in Lösung ging. Nach 20 Min. Rückflußerhitzen (Orangefärbung) wurde der Trockenrest im Vak. hergestellt und nach 2maligem Aufnehmen desselben in Benzol und neuerlichem Verdampfen im Vak. ein für die Bildung von (II) zu erwartendes Gewicht an bei 58 bis 65° schmelzendem Rohprodukt erhalten. Durch Umkristallisation aus Petroläther (30 bis 50°) wurden 92% d. Th. an praktisch reinem, bei 63 bis 65° schmelzendem (II) gewonnen.

Versuch 3: 2-Dichlormethyloxazolin (III). 500 mg (II) wurden mit einem Gemisch von 0,5 ccm 5 n NaOH und 0,3 ccm Methanol unter Umschütteln kurz auf 45° erwärmt, wobei Umwandlung des (II) in ein Öl erfolgte. Nach 30 Min. Stehen bei 20° wurde mit Wasser verdünnt, Pottasche gesättigt und Äther extrahiert. 270 mg angenehm riechendes Öl, das bei 0,4 Torr und 35 bis 40° Badtemp. überging. Ausbeute 59% d. Th. ($n_D^{22,5°} = 1{,}4972$).

Längeres Erwärmen oder längeres Stehenlassen führten zu keiner Erhöhung der Ausbeute, die sich vielleicht aber durch Milderung der Reaktionsbedingungen (Alkalikonzentration, Temperatur) erzielen ließe. — Die Verbindung ist in Äther gut, in Wasser zunächst unlöslich, beim Stehen unter Hydrolyse (siehe unten) löslich.

$C_4H_5ONCl_2$ (154,0). Ber. C 31,19, H 3,27, N 9,09, Cl 46,05.
Gef. C 31,00, H 3,40, N 9,19, Cl 46,13.

Hydrolytische Empfindlichkeit von (III), Bildung von (I).

Versuch 3a: Ein bereits destilliertes Dichlormethyloxazolin (III) hinterließ nach 3tägigem Stehen im verschlossenen Gefäß nach neuerlicher Destillation einen kristallinen Rückstand (zirka 8%), welcher als fast reines N-Dichloracetyläthanolamin einen Schmp. von 83 bis 85° zeigte.

Versuch 3b: Wird das Oxazolin mit wenig Wasser vermischt, so löst es sich allmählich, nach zirka 24 Stdn. völlig darin auf. Der Vakuumeindampfrest ergibt nach Umkristallisation aus Äther-Petroläther (30 bis 50°) N-Dichloracetyläthanolamin vom Schmp. 85° wie oben.

Versuch 3c: Pikratbildung von (III), Isolierung von (IVa)-Pikrat. Nach Versetzen der absol. äther. Lösung von 234 mg (III) mit einer überschüssigen äther. Pikrinsäurelösung fiel das Pikrat in goldgelben, glänzenden Blättchen vom Zersp. 150 bis 156° aus. Die in Alkohol gut, in Äther wenig lösliche Verbindung wurde durch Lösen in wenig absol. Methanol, Zugabe der 3fachen Menge absol. Äther und anschließende Fällung durch tropfenweise Petroläther zugabe gereinigt. Zersp. 155 bis 157°.

Wie sich aus den weiteren Versuchen ergab, liegt das Pikrat des O-Dichloracetyläthanolamins (VIa) vor.

$C_{10}H_{10}O_9N_4Cl_2$ (401,1). Ber. N 13,97, Cl 17,68. Gef. N 14,19, Cl 17,05.

Durch Zersetzen von 54 mg (IVa) mit 2,5 ccm gesättigter Pottaschelösung unter Äther konnten aus diesem 14 mg (58% d. Th.) an N-Dichloracetyläthanolamin (I) vom Schmp. 77 bis 85° (Mischprobe) erhalten werden. Verluste an (I) dürften auf seine relativ gute Wasserlöslichkeit zurückzuführen sein.

Versuch 4: O-Dichloracetyläthanolamin-hydrochlorid (IVb) bzw. Pikrat (IVa) und Überführung (IVb) → (I). Zu 5 g Dichloracetylchlorid (2 Äqu.) und 36 g, mit HCl-Gas gesättigter Dichloressigsäure (3 Äqu.) wurden unter Kühlung tropfenweise 1 g frisch destill. Äthanolamin (1 Äqu.) gegeben. Nach 5stündigem Stehen der Lösung begann auf Zugabe von 75 ccm Äther sofort Kristallisation, welche durch Verreiben mit diesem Lösungsmittel vervollständigt wurde. Man erhielt 2,5 g = 72% d. Th., mit Äther gewaschene Kristalle vom Schmp. 95 bis 100°, mit den Eigenschaften eines Hydrochlorids. Aus Aceton-absol. Äther oder aus Essigester umkristallisiert, wird ein Schmp. von 99 bis 102° beobachtet.

Zur Überführung in das Pikrat wurde das in wenig Wasser gelöste (IVb) mit heißer Na-Pikratlösung oder mit heißer wäßr. Pikrinsäure versetzt. Beim Erkalten schieden sich in guter Ausbeute gelbe Kristalle ab, welche abfiltriert und mit etwas Äther gewaschen wurden. Umkristallisation aus Wasser, gelbe kleine *Stäbchen* vom Zersp. 152 bis 156°; Umkristallisation aus wenig absol. CH_3OH, absol. Äther und Fällung mit Petroläther (30 bis 50°), goldgelb glänzende, rhombische *Blättchen* vom selben Zersp. Mischschmp. mit dem im Versuch 3c beschriebenen Pikrat aus dem 2-Dichlormethyl-oxazolin (III), welches in denselben rhombischen Blättchen kristallisierte, ergab keine Depression (Zersp. 152 bis 156°).

Zur Überführung des (IVb) in das N-Dichloracetyl-äthanolamin (I) wurden 500 mg davon mit gesättigter wäßr. K_2CO_3-Lösung versetzt und die Lösung dann mit Essigester ausgezogen. Trocknung und Verdampfen des Lösungsmittels ergab 256 mg (I) = 63% vom Schmp. 80 bis 85°, Mischprobe 79 bis 85°.

Versuch 5: Kondensation von 4-Nitrobenzaldehyd (V) mit 2-Dichlormethyl-oxazolin (III) zu (VIa). 870 mg (V), 888 mg (III) (1 Mol) wurden mit 15 Tropfen Methanol verrieben, 24 Stdn. bei 20° belassen, worauf der Geruch von (V) praktisch verschwunden war und ein kristalldurchsetztes Öl resultierte. Nach Verjagen der leichtflüchtigen Anteile im Vak. wurden die kristallinen Anteile durch Verreiben mit Äther isoliert 1,1 g = 62% d. Th. vom Schmp. 129 bis 133°, der sich nach Umlösen aus wenig absol. Methanol oder Aceton, wobei zu langes Erwärmen zu vermeiden ist, auf den konst. Wert von 138° erhöhte. [Aus der öligen Gesamtmutterlauge konnte noch unveränderter (V) herausgearbeitet werden.]

$C_{11}H_{10}O_4N_2Cl_2$ (305,1). Ber. C 43,30, H 3,30, N 9,18, Cl 23,24.
Gef. C 43,49, H 3,41, N 9,30, Cl 23,02.

(VIa) hat zunehmende Löslichkeit in der Reihe Wasser, Äther, Methanol, Aceton.

Die qualitative Analyse auf Nitro- und Halogengruppen fiel positiv aus. Eine Doppelbindung (Tetranitromethan, $KMnO_4/Na_2CO_3$) war nicht nachweisbar. Mit 5 n NaOH erwärmt, resultiert neben einem gelben Niederschlag eine rote Lösung. Nach Ansäuern tritt Farbumschlag nach gelborange ohne Lösung des Niederschlages ein.

Ein in äther. Lösung (mit Petrolätherzusatz) dargestelltes Pikrat zeigte einen Zersp. von 132 bis 140°, wurde aber nicht weiter bearbeitet.

Versuch 5a: Einwirkung von halbkonzentrierter Salzsäure in der Kälte auf (VIa). 600 mg (VIa) wurden in 2,3 ccm verd. Salzsäure (1,5 ccm HCl

konz. + 2,5 ccm H_2O) unter Rühren eingetragen. Es war teilweise Lösung und alsbald erneut einsetzende Kristallisation zum dicken Brei zu beobachten. Der ersichtliche Umsatz wurde durch $^1/_2$stünd. Rühren vervollständigt und darauf (unter Kühlung) 669 mg [95% d. Th., bezogen auf ein Addukt von (VIa) mit 1 Mol HCl + 1 Mol H_2O] mit Äther gewaschene Kristalle vom Zersp. 196 bis 200° isoliert. Die Verbindung ist in Wasser mit fast neutraler Reaktion (ionogen. Chlor nachweisbar) löslich, gut in absol. Methanol, nicht hingegen in Aceton oder apolaren organischen Solventien. Qualitativ ist eine Nitrogruppe nachweisbar, jedoch keine Doppelbindung. Mit 5 n NaOH erwärmt, zeigt die Verbindung dieselbe Farbreaktion (rot), aber bräunliche Niederschlagsbildung wie (VIa). Auf Ansäuern Umschlag der Farbe nach gelb. — Wurden 61 mg des Hydrochlorids in 1,65 ccm H_2O gelöst und mit 10%iger Pottaschelösung auf pH 9 bis 10 alkalisiert, so fiel ein mit Essigester oder Äther leicht aufnehmbares Öl (51 mg, 94% d. Th.), das nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte und in verd. Salzsäure unlöslich war.

Versuch 6: Acetylderivat (VIb). Zu 335 mg in 0° gekühltem Gefäß befindlichem (VIa) wurde die gleich stark abgekühlte Mischung von 2 ccm trockenem Pyridin und 2 ccm Essiganhydrid tropfenweise zugegeben, wobei (VIa) sofort in Lösung ging. Nach 1stünd. Stehen bei 0° und 24 Stdn. bei 20° wurden die leichtflüchtigen Bestandteile bei einer 40° nicht übersteigenden Badtemp. im Vak. (Eisverdampfung) entfernt und der Rückstand mit 10 ccm Äther zur Kristallisation gebracht. Unter Mitaufarbeitung der Mutterlauge wurden 312 mg (82% d. Th.) an bei 131 bis 134° schmelzenden Kristallen erhalten, die durch Umlösen aus absol. Methanol bis auf den Schmp. von 135,5° gereinigt wurden. [Mit (VIa) starke Schmelzpunktsdepression, Halogen- und Nitrogruppe qualitativ nachweisbar, desgleichen der Acetylrest durch Erwärmen mit konz. Schwefelsäure (Essigsäuregeruch).]

$C_{13}H_{12}O_5N_2Cl_2$ (347,16). Ber. C 44,98, H 3,48, N 8,07, Cl 20,43.
Gef. C 44,78, H 3,54, N 8,20, Cl 20,67.

Acetylbestimmung nach *Kunz*[5]: 4,431 mg Substanz verbrauchen 5,00 ccm 0,01 n NaOH (in Aceton bei 0°, 5 Stdn.).

Ber. für 1 Äquivalent: 1,27 ccm 0,01 n NaOH.

Versuch 7: Hydrolyse von (VIa) mit siedender Salzsäure zu (VII). 397 mg (VIa) (aus Aceton umkristallisiert, Schmp. 133 bis 135°) wurden mit 5,5 ccm zirka 1 n HCl zum Sieden erhitzt. Nach 2 Min. hatte sich alles gelöst; das Gemisch wurde $1^1/_2$ Stdn. rückflußerhitzt. Nach dem Erkalten schied sich ein schweres Öl ab, das mit Äther extrahiert wurde (Bearbeitung der salzsauren Phase siehe unten).

Isolierung des sauren Spaltstückes. Die Ätherphase wurde mit gesättigter Bicarbonatlösung (8 ccm in 3 Teilen) geschüttelt, die wäßr. Phase angesäuert und abermals mit Äther extrahiert. Nach dem Verdampfen der getrockneten Ätherlösung blieben 297 mg Kristalle vom Schmp. 197 bis 202° zurück (81% d. Th.). Nach 2maligem Umkristallisieren aus Äther-Petroläther Schmp. 201 bis 202° (konstant).

$C_9H_7O_5NCl_2$ (280,07). Ber. C 38,60, H 2,52, N 5,00, Cl 25,32.
Gef. C 39,72, H 2,72, N 5,09, Cl 25,34.

Das Molgewicht wurde durch potentiometrische Titration zu 282,6 gefunden. (Einw. 18,40 mg, Verbrauch 3,261 ccm 0,02 n NaOH.)

Die Verbindung ist in Wasser mäßig (pH der $1^0/_{00}$ Lösung: 2,41), in Äthanol und Äther gut löslich.

Der mit äther. Diazomethanlösung bereitete Methylester der Säure schmolz bei 118 bis 121°.

Isolierung des basischen Spaltstückes. Die salzsaure Phase wurde im Vak. zur Trockne verdampft und einige Tage über KOH im Vak.-Exsikkator aufbewahrt. Rückstand 163 mg. Nach Benzoylierung mit Benzoylchlorid-Kaliumcarbonat und nachfolgender Ätherextraktion wurden 137 mg eines langsam erstarrenden Öles erhalten, das mit Äther-Petroläther zur Kristallisation gebracht wurde. Schmp. 60 bis 62°. Die Verbindung war nach der Mischprobe ident mit N-Benzoylcolamin.

Ramanspektren einiger Derivate der Sulfanilsäure*.

Von

A. Maschka und **H. Aust.**

Aus dem Institut für Physikalische Chemie der Technischen Hochschule Wien.

(Eingelangt am 9. April 1954.)

Die Ramanspektren von 13 kristallisierten Benzolsulfonsäurederivaten werden mitgeteilt. Unter Mitbenützung bekannter Spektren von Verbindungen mit einer Sulfonylgruppe wird versucht, die Frequenzen der S → O-, S—OH-, S—N- und C—S-Bindung anzugeben.

Die Ramanspektren zahlreicher Sulfonamide sind noch nicht beschrieben. Mit dieser Veröffentlichung der Spektren von 13 kristallisierten Benzolsulfonsäureamiden wird ein Beitrag zur Zuordnung vor allem der S → O- und S—N-Frequenzen geliefert.

Experimentelles. Die von uns verwendete Versuchsanordnung arbeitet nach der *Gerlach*schen Methode der komplementären Filter und stimmt mit der schon beschriebenen[1] bis auf folgende Abänderung praktisch überein: Das Ramanrohr wird außen mit mehreren Schichten eines Filterlackes belegt, der aus einem Harnstoffeinbrennlack von 30% Trockensubstanz besteht, in dem 2% Rhodamin B 6 GDN Extra gelöst sind. Damit wird das Ramanrohr gleichmäßig bestrichen und der Lack 20 Min. bei 110° C eingebrannt. Er ist nur dann haltbar, wenn er durch Verwendung von Natriumnitrit als Filter gegen UV-Einwirkung entsprechend geschützt wird. In den drei Räumen der Viermantelküvette befinden sich (von außen nach innen): 1. Kühlwasser, 2. mit HNO_3 schwach angesäuerte Praseodymnitratlösung (zirka 30%ig), 3. Natriumnitritlösung (zirka 30%ig).

Die zu untersuchenden Substanzen wurden 2mal aus wäßr. Methanol (2 Vol. Methanol + 1 Vol. Wasser), das erste Mal in Gegenwart von Tierkohle, die Sulfanilsäure allein aus Wasser, umkristallisiert und besaßen die in Tabelle 1 angegebenen Schmelzpunkte.

---

* Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zum 60. Geburtstag gewidmet.

[1] *M. v. Stein, A. Maschka, F. Wollrab* und *W. Gnilsen*, Z. physik. Chem. 201, 261 (1952).

Tabelle 1. Ramanfrequenzen ν in cm^{-1} und deren Intensitäten (Schätzwerte in einer 10stufigen Skala).
(In Klammern gebräuchliche Handelsbezeichnungen und Schmelzpunkte.)

1-Aminobenzol-sulfonsäure-(4) (Sulfanilsäure, Schmp. 280°): ν = 241 (0), 333 (0), 512 (1), 586 (0), 606 (1), 706 (2), 753 (1), 891 (1), 930 (2), 1036 (1), 1107 (1), 1219 (0), 1259 (1), 1319 (1), 1438 (1), 1607 (1), 1689 (1), 1780 (0), 1857 (0), 1935 (0), 2234 (0), 2530 (1), 2810 (1), 2937 (1).

1-Aminobenzol-sulfonsäure-4-amid (Sulfanilsäureamid, Schmp. 162°): ν = 184 (1), 259 (2), 309 (1), 372 (2), 431 (1), 500 (0), 565 (1), 646 (1), 693 (2), 729 (0), 841 (1), 925 (1), 1014 (4), 1091 (3), 1132 (3), 1182 (1), 1204 (1), 1307 (4), 1417 (2), 1503 (2), 1591 (4), 1705 (0), 2301 (1), 2431 (1), 3056 (0), 3355 (2), 3445 (2).

1-Aminobenzolsulfonsäure-4-monomethylamid (Sulfanilsäuremonomethylamid, Schmp. 116°): ν = 226 (0), 311 (0), 360 (0), 403 (0), 448 (0), 535 (0), 561 (0), 585 (0), 717 (0), 769 (0), 831 (0), 926 (1), 1021 (1), 1084 (1), 1136 (4b), 1224 (1), 1305 (1), 1412 (2), 1451 (1b), 1596 (8), 1842 (1), 3221 (2), 3265 (3b).

1-Aminobenzol-sulfonsäure-4-dimethylamid (Sulfanilsäuredimethylamid, Schmp. 166 bis 168°): ν = 214 (1), 256 (1), 308 (1), 357 (2), 410 (1), 548 (1), 606 (1), 632 (0), 672 (0), 706 (1), 741 (1), 772 (0), 799 (2), 856 (0), 939 (0), 1066 (1), 1098 (1), 1136 (1b), 1197 (0), 1219 (0), 1337 (1b), 1393 (2), 1595 (3b), 1801 (2), 2060 (1), 2242 (1), 2335 (1), 2499 (2).

Benzol-sulfonsäureamid (Schmp. 152 bis 154°): ν = 552 (1), 584 (1), 685 (1), 646 (3), 672 (1), 696 (2), 829 (2), 846 (4), 871 (1), 897 (1), 947 (1), 979 (1), 1031 (1), 1060 (1), 1163 (1), 1195 (3), 1293 (0), 1311 (1), 1383 (1), 1421 (1), 1493 (1), 1530 (1), 1651 (1), 1679 (1), 1791 (1), 1830 (1), 1989 (1), 2058 (1), 2097 (1), 2183 (1), 2308 (1), 2406 (2), 2519 (1b), 2563 (1), 2752 (1), 2781 (1).

1-Methylbenzol-sulfonsäure-4-amid (p-Toluolsulfamid, Schmp. 137,5°): ν = 296 (2), 418 (0), 475 (0), 579 (0), 627 (1), 702 (1), 805 (2), 916 (2), 977 (1), 1099 (1), 1149 (4), 1260 (0), 1338 (0), 1454 (0), 1594 (3), 1809 (0), 1909 (1), 1992 (0), 2289 (0).

1-Methylbenzol-sulfonsäure-4-chlorid (p-Toluolsulfochlorid, Schmp. 69°): ν = 307 (4 sb), 370 (4), 393 (2), 416 (1), 440 (1), 475 (0), 497 (1), 517 (1), 565 (1), 611 (1), 685 (1 b), 799 (1), 897 (1), 963 (1), 994 (2), 1076 (2), 1163 (7), 1211 (2), 1306 (0), 1373 (0), 1429 (1), 1591 (6), 1617 (1), 1643 (1), 2503 (1), 2736 (1), 2963 (0), 3221 (0), 3363 (0).

1-Aminomethylbenzol-sulfonsäure-4-amid (Marfanil, Medusin, Schmp. 153°): ν = 193 (1), 214 (1), 262 (1), 349 (0), 448 (0), 531 (3 sb), 597 (0), 645 (0), 717 (1), 797 (1), 848 (0), 897 (3), 955 (1), 999 (0), 1057 (0), 1087 (1), 1156 (0), 1334 (2), 1379 (0), 1436 (1), 1472 (1), 1508 (1), 1569 (1), 1576 (1), 1604 (5), 1660 (1), 1704 (1), 1821 (0), 1891 (0), 2113 (3), 2238 (0), 2287 (0), 2397 (1), 2998 (0), 3333 (0).

2-Sulfanilamidothiazol (Sulfathiazol, Cibazol, Eleudron, Thiazamid, Schmp. 200°): ν = 169 (0), 206 (0), 246 (0), 327 (1 b), 385 (2), 440 (1 b), 536 (1), 636 (2), 687 (0), 721 (1), 746 (0), 774 (0), 845 (0), 1136 (2 b), 1187 (1), 1325 (1 b), 1381 (1), 1412 (0), 1491 (1), 1535 (1), 1595 (3), 1671 (2), 2308 (1), 2386 (0), 2515 (0), 2728 (1), 2836 (1), 3042 (0), 3221 (0), 3355 (0).

2-Sulfanilamido-guanidin (Sulfaguanidin, Guanicil, Sulfoguanil, Schmp. 190°): ν = 327 (3 sb), 539 (0), 631 (1), 657 (1), 697 (1), 717 (2), 744 (2), 826 (3 b), 877 (0), 951 (1), 1189 (1), 1222 (0), 1275 (1), 1313 (1), 1408 (1), 1441 (1), 1595 (7), 1641 (0), 1783 (1), 1834 (0), 1849 (1), 1898 (0), 1998 (0), 2087 (0), 2169 (0), 2925 (0), 3049 (0), 3126 (0), 3199 (0), 3338 (0).

2-Sulfanilamido-pyrimidin (Sulfadiazin, Pyrimal, Schmp. 255°): ν = 539 (0), 596 (0), 622 (1), 644 (1), 662 (1), 691 (1), 738 (2), 1190 (1), 1312 (1), 1371 (0), 1425 (1), 1647 (2), 1908 (3), 1945 (1), 2152 (3), 2255 (3), 2288 (1), 2331 (1), 2324 (1), 2400 (1), 2885 (1), 3232 (1), 3248 (1), 3267 (1).

2-Sulfanilamido-4-methyl-pyrimidin (Sulfamerazin, Percoccide, Schmp. 237°): ν = 349 (0), 437 (0), 502 (1), 537 (1), 577 (3), 599 (1), 642 (0), 671 (1), 700 (1), 756 (0), 846 (1), 980 (1), 1022 (1), 1152 (1), 1174 (1), 1381 (0), 1434 (1), 1502 (0), 1537 (1), 1578 (1), 1825 (1), 2154 (5), 2270 (1), 2285 (1).

2-Sulfanilamido-4,6-dimethyl-pyrimidin (Diazil, Debenal, Sulfamethazin, Sulfamezatin, Schmp. 205°): ν = 214 (1), 252 (1), 292 (1), 340 (3 b), 400 (3), 436 (0), 532 (1), 640 (1), 685 (1), 697 (0), 721 (0), 776 (0), 796 (2), 865 (0), 940 (1), 979 (1), 1025 (0), 1068 (1), 1150 (1), 1168 (1), 1208 (1), 1273 (1), 1401 (0), 1426 (1), 1491 (1), 1654 (2), 1679 (2), 1811 (1), 1921 (4 b), 2000 (1), 2065 (0), 2290 (0), 2324 (1), 2381 (1).

Ergebnisse und Diskussion. Die in Tabelle 1 verzeichneten Zahlen geben die Frequenzen und Intensitäten der Ramanlinien der untersuchten Substanzen an. Aus diesem ermittelten sowie dem in der Literatur bereits vorliegenden Zahlenmaterial haben wir versucht, Frequenzen für einzelne Bindungen anzugeben (Tabelle 2). In die Zusammenstellung (Tabelle 2) wurden Verbindungen mit einem zweiten Ring nicht aufgenommen, weil bei diesen noch unübersichtlichere Verhältnisse vorliegen.

Wie sich zeigt, treten die Frequenzen 1060 bis 1126 und 1132 bis 1180 cm^{-1} in den freien Sulfonsäuren, den Sulfonsäurechloriden und den Sulfonsäureamiden bzw. deren N-Substitutionsprodukten auf. Es ist naheliegend, diese Frequenzen in Übereinstimmung mit *R. Vogel-Högler*[2] den S → O-Schwingungen zuzuschreiben. Daß die Frequenzen der Benzolsulfonsäurederivate um etwa 60 bis 100 cm^{-1} niedriger liegen als die von *Vogel-Högler* für Alkylsulfone gefundenen, kann durch die größere Masse der Substituenten erklärt werden.

Die bei Sulfonsäuren bzw. deren Amiden im Bereich 891 bis 955 cm^{-1} auftretenden Frequenzen dürften der S—OH- bzw. S—N-Schwingung zukommen, weil sie in den beiden Sulfonsäurechloriden, also in Verbindungen, die weder eine S—N-, noch eine S—OH-Bindung haben, fehlten. In diesen Substanzen tritt jedoch eine Linie bei etwa 450 cm^{-1} auf, die möglicherweise der S—Cl-Bindung entspricht[2].

Anderseits geben aber *Angus* und Mitarbeiter[3] auf Grund der Spektren von fünf, die S—N-Bindung enthaltenden Substanzen an, daß die S—N-Frequenz im Bereiche von 1055 bis 1105 cm^{-1} liegen soll. Bei einer dieser Verbindungen, dem N,N'-Dithiopiperidin, liegt sie bei 1055 cm^{-1}. Es muß allerdings bemerkt werden, daß bereits das Ramanspektrum des

---

[2] *R. Vogel-Högler*, Acta Physica Austriaca **1**, 323 (1948).

[3] *R. W. Angus, A. H. Leckie* und *T. I. Williams*, Trans. Faraday Soc. **34**, 793 (1938).

Tabelle 2. Zusammenstellung der lagebeständigen Frequenzen (in cm^{-1}).

(Zeichenerklärung: — Frequenz kann in diesem Molekül nicht auftreten; ? Frequenz nicht gefunden bzw. in der Literatur nicht angegeben.)

	(S—O) sym.	(S—O) asym.	(S—OH)	(S—N)	(S—Cl)	Anmerkung
Benzolsulfonsäure, krist.	1124	1180	896	—	—	*Landolt-Börnstein*[4]
Benzolsulfonsäurechlorid, krist.	1076	1168	—	—	457	*Landolt-Börnstein*[4]
Benzolsulfonsäureamid, krist.	1078	1156	—	900	—	*Landolt-Börnstein*[4]
	1060	1163	—	897	—	diese Arbeit
1-Methylbenzol-sulfonsäure, krist.	1126	?	?	—	—	*Landolt-Börnstein*[4]
1-Methylbenzol-sulfonsäurechlorid, krist.	1076	1163	—	—	440 oder 475	diese Arbeit
1-Methylbenzol-sulfonsäureamid in Lösung (Methanol)	1105	?	—	912	—	*Angus* und Mitarb.[3]
flüssig	1073	1144	—	915	—	*Angus* und Mitarb.[3]
krist.	1099	1149	—	916	—	diese Arbeit
1-Aminobenzol-sulfonsäure-(4), krist.	1107	?	891	—	—	„ „
1-Aminobenzol-sulfonsäure-4-amid, krist.	1091	1132	—	925	—	„ „
1-Aminobenzol-sulfonsäure-4-monomethylamid, krist.	1084	1136	—	926	—	„ „
1-Aminobenzol-sulfonsäure-4-dimethylamid, krist.	1098	1136	—	939	—	„ „
1-Aminomethylbenzol-sulfonsäure-4-amid, krist.	1087	1156	—	955	—	„ „

Piperidins bei 1050 cm^{-1} eine starke Linie aufweist[4] und daß in den — übrigens relativ linienarmen — Spektren dreier anderer Substanzen in dem von uns für die S—N-Bindung vorgesehenen Bereich ebenfalls Ramanlinien auftreten.

[4] *Landolt-Börnstein*, Zahlentafeln, 6. Aufl., Bd. I, 2. und 3. Teil. 1951

Schreiber[5] ermittelte die Ultrarotspektren einer größeren Zahl von Verbindungen mit der Atomgruppierung $—SO_2—$ im Frequenzbereich oberhalb 1000 cm^{-1} und schreibt auf Grund einer ausführlichen Diskussion eine Reihe von Frequenzen zwischen 1000 und 1500 cm^{-1} der SO_2-Gruppe zu, was mit den Ergebnissen der Ramanspektroskopie in Einklang steht. Hinsichtlich der C—S-Frequenzen schließlich finden sich in den vorliegenden Ergebnissen in dem von *Vogel-Högler*[2] angegebenen Bereich (700 bis 800 cm^{-1}) ebenfalls starke Ramanlinien.

Den folgenden Firmen, die uns durch Überlassung von Substanzen unterstützten, danken wir bestens: Farbenfabriken Bayer A. G., Leverkusen (Sulfanilsäure, Sulfanilsäureamid, Sulfanilsäuremono- und -dimethylamid, Benzolsulfonsäureamid, p-Toluolsulfamid, Marfanil, Eleudron, Debenal), Boots Pure Drug Comp. Ltd., Nottingham (Sulphathiazole, Sulphanilamide, Sulphaguanidine), Herts Pharmaceuticals Ltd., Welwyn Garden City (Sulphathiazole), N. V. Societeit voor Chemische Industrie, Katwijk (Sulfaguanidine), Nyegard & Co., Oslo (Sulfadiazin, Sulfamerazin), Dr. A. Wander G. m. b. H., Wien (Sulfaguanidin, Sulfamethazin) und Cilag-Austria, Wien (Diazil).

[5] *K. C. Schreiber*, Analyt. Chemistry **21**, 1170 (1949).

Über das Nicotellin und die Synthese eines neuen Terpyridyls.

Von

Friedrich Kuffner und **Ernst Kaiser***.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 24. April 1954.)

Das Nicotellin enthält wahrscheinlich nicht, wie die meisten anderen Tabakalkaloide, 2 N-Atome in der Molekel, sondern hat die Formel $C_{15}H_{11}N_3$. Es werden gewichtige Gründe dafür beigebracht, es als 3,2′;6′,3″-Terpyridyl (I) aufzufassen. Diese Hypothese wird durch Synthese des damit isomeren 3,2′;4′,3″-Terpyridyls (V) und Vergleich der Infrarotspektren der beiden Terpyridyle mit denen von 4 bekannten Bipyridylen gestützt. Betrachtungen über eine mögliche Synthese des Nicotellins in der Pflanze führen zu Versuchen, diese Synthese in vitro nachzuahmen; diese Versuche geben aber eine andere Verbindung, wahrscheinlich das 1,5-Di-β-pyridyl-pentadien-(1,4)-on-(3).

Unter den Nebenalkaloiden eines technischen Extraktes aus Kentucky-Tabak, welche 1901 von *Pictet* und *Rotschy*[1] beschrieben wurden, ist das am besten definierte das Nicotellin, welches sich von den übrigen heute näher bekannten Tabakalkaloiden durch seinen hohen Schmelzpunkt (147 bis 148°) und seine große Beständigkeit, insbesondere gegen Oxydation, charakteristisch unterscheidet. Das Nicotellin wurde dann in der Literatur nur noch einmal, von *E. Noga*[2], beschrieben, der es aus einem Extrakt von türkischem Tabak isolierte, schließlich wurde es durch ein Patent als Schädlingsbekämpfungsmittel geschützt.

Herr Direktionsrat Dr. *A. Wenusch* † (Österr. Tabakregie) hatte das große Entgegenkommen, Herrn Prof. *Späth* das Originalpräparat von

---

* Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zum 60. Geburtstage in aufrichtiger Verehrung gewidmet.

[1] *A. Pictet* und *A. Rotschy*, Ber. dtsch. chem. Ges. **34**, 696 (1901); *A. Pictet* Arch. Pharmaz. **244**, 388 (1906).

[2] *E. Noga*, Fachl. Mitt. Österr. Tabak-Regie **1914**, Heft 1; Chem. Zbl **1915** I, 434.

E. Noga (0,3 g) zu überlassen. Es konnte daher eine Konstitutionsermittlung des Nicotellins versucht werden.

Zunächst zeigten Analysen, welche der eine von uns (F. K.) im Jahre 1931 anstellte, zwar zum Teil gute Übereinstimmung mit den von *Pictet* und *Rotschy* veröffentlichten Zahlen, und eine bei Dr. Ing. *A. Schoeller* (Berlin) etwa 10 Jahre später durchgeführte Analyse bestätigte alle diese Befunde, es schien uns aber, daß sich aus diesen Werten, welche an zwei verschiedenen Präparaten, an drei verschiedenen Orten und von drei verschiedenen Analytikern gewonnen wurden, nicht so sehr die von *Pictet* und *Rotschy*, offenbar wegen eines vermuteten Zusammenhanges mit Nicotin ($C_{10}H_{14}N_2$) angenommene Formel des Nicotellins ($C_{10}H_8N_2$) errechnen lasse als vielmehr mindestens ebensogut die Formel $C_{15}H_{11}N_3$. Obwohl *Noga* kurz bemerkt, Molekulargewichtsbestimmungen hätten mit der *Pictet*schen Formel gute Übereinstimmung gezeigt, haben wir nach den Methoden von *Rast* sowie von *Pirsch*[3] wesentlich höhere Ergebnisse erhalten, die wieder für eine C_{15}-Formel sprachen.

In der Folge haben noch *E. Späth* † und *F. Niederheim*[4] das Nicotellin untersucht, doch führten diese aus äußeren Gründen abgebrochenen Untersuchungen zu keinerlei Schlüssen betreffs der Konstitution des Alkaloides.

Uns schienen in dieser Arbeit zwei Befunde bemerkenswert, nämlich die Analyse des Goldsalzes, deren zunächst überraschende Werte für Kristallwasser und Gold sehr gut mit der Zusammensetzung $C_{15}H_{11}N_3 \cdot 2\,HAuCl_4 \cdot 2\,H_2O$ verträglich waren, und eine präparative Bestimmung des Pikrinsäuregehaltes im Nicotellinpikrat, welche wieder nicht zwanglos mit der Bruttoformel $C_{10}H_8N_2$ für das Alkaloid in Einklang zu bringen war, dagegen befriedigend auf $C_{15}H_{11}N_3 \cdot 2\,C_6H_3O_7N_3$ stimmte. Beide Bestimmungen waren von Prof. *Späth* ausgeführt worden, wurden aber vorwiegend im Hinblick auf C_{10}-Formeln interpretiert.

Wir erblickten in ihnen eine starke Stütze für die C_{15}-Formel, um so mehr, als auch ein im Nachlaß von Prof. *Späth* vorgefundenes Bromhydrat einen Bromgehalt aufwies, der neuerlich für $C_{15}H_{11}N_3 \cdot 2\,HBr$ sprach, dagegen wieder mit C_{10} nicht in erkennbarer Beziehung stand; $C_{15}H_{11}N_3$ ist aber die Bruttoformel der Terpyridyle.

Schon *Pictet* und *Rotschy* haben daran gedacht, daß Nicotellin mit einem der sechs denkbaren Bipyridyle identisch sein könnte, wofür die von ihnen angenommene Bruttoformel und der allerdings nicht sehr genau ermittelte Siedepunkt (300 bis 310°) sprach; der nähere Vergleich seiner Eigenschaften mit denen der vier damals bereits bekannten Bipyridyle zeigte ihnen allerdings, daß es mit keinem der bekannten

---

[3] *J. Pirsch*, Ber. dtsch. chem. Ges. **66**, 815 (1933).
[4] *F. Niederheim*, Dissertation Univ. Wien (1947).

Isomeren identisch sein könne. Als später *C. R. Smith*[5] das letzte Isomere aufgefunden zu haben vermeinte, stellte er fest, daß gar keines der Bipyridyle mit Nicotellin identisch sein könne; z. B. schmilzt das höchstschmelzende Bipyridyl bei 114°. Inzwischen hat *Krumholz* die Frage der Konstitution des als β,γ'-Bipyridyl aufgefaßten Isomeren neuerlich aufgeworfen[6], so daß hier vielleicht noch nicht das letzte Wort gesprochen ist.

Wichtig scheint uns, daß es unter den Bipyridylen einige gibt, welche Monopikrate liefern, während z. B. das β,β'-Bipyridyl ein Dipikrat bildet. Es ist also sehr plausibel, daß es unter den Terpyridylen solche geben kann, deren Pikrate keine Tri-, sondern z. B. Dipikrate sind, sei es, daß diese basischen Salze schwerer löslich sind als diejenigen, in welchen die Base dreisäurig fungiert, sei es aber auch, daß die Basizität der dritten Stufe überhaupt zu gering ist, um noch pikratbildend zu wirken. *Krumholz* hat die 1. und 2. Dissoziationskonstante der Bipyridyle bestimmt[6]; es hat sich gezeigt, daß die Fähigkeit zur Mono- oder Dipikratbildung nicht parallel geht mit dem Wert der Dissoziationskonstanten der 2. Stufe.

Wir haben versucht, durch Aufnahme der Titrationskurve Anzeichen für die Dreisäurigkeit des Nicotellins zu finden, doch ermöglichte die potentiometrische Titration keine Entscheidung dieser Frage.

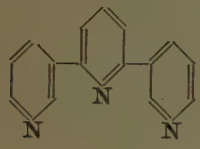
Zur Prüfung unserer Hypothese schien uns die Untersuchung des Infrarotspektrums des Nicotellins wichtig zu sein, da die Formel eines Terpyridyls, z. B. I, die sehr bemerkenswerte Eigentümlichkeit besitzt, weder CH_3- noch CH_2-, NH_2- oder NH-Gruppen aufzuweisen. Eine Untersuchung des kurzwelligen Gebietes der Aufnahmen bestätigte unsere Vermutung in bester Weise.

Wir haben daher unsere Hypothese weiter verfolgt. Von den 48 möglichen Terpyridylen sind zur Zeit nur 4 in der Literatur erwähnt, nur 2 davon ausreichend beschrieben, und zwar das α,α',α''-Tripyridyl[7] (besser als 2,2';6',2''-Terpyridyl zu bezeichnen, wobei die einfach gestrichelten Stellungsbezeichnungen sich auf den mittleren, die gar nicht bzw. doppelt gestrichenen auf die beiden einfach substituierten Pyridinringe beziehen), und das sog. β,β',β''-Tripyridyl (3,3';5',3''-Terpyridyl)[9], schließlich zwei weitere[7,8], die wegen ihrer Farbreaktion mit Ferrosalz als α,α',x''-Tripyridyle aufgefaßt werden. Die Schmelzpunkte dieser wenigen Terpyridyle liegen in einem sehr weiten Bereich, in welchen das Nicotellin ohne weiters hineinpassen würde, während, wie erwähnt, die Bipyridyle im Vergleich zu dem Naturstoffe zu tief schmelzen. Der Siedepunkt des Nicotellins würde dagegen sehr viel besser zu den Bi-

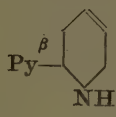
[5] *C. R. Smith*, J. Amer. Chem. Soc. **46**, 414 (1924).
[6] *P. Krumholz*, J. Amer. Chem. Soc. **73**, 3487, 4449 (1951).
[7] *G. T. Morgan* und *F. H. Burstall*, J. Chem. Soc. London **1932**, 20.
[8] *P. Krumholz*, Chem. Abstr. **44**, 3993d (1950).
[9] *M. Busch* und *W. Weber*, J. prakt. Chem. [2] **146**, 1 (1936).

pyridylen passen als zu Terpyridyl, doch kann bezweifelt werden, ob er 1901 bei so kleinen Mengen richtig bestimmt worden ist. Sehr auffällig ist die hohe Oxydationsbeständigkeit der Bi- und besonders der Terpyridyle; gerade diese Eigenschaft gehört zu den wenigen, auch vom Nicotellin bekannten chemischen Eigenschaften.

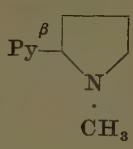
Vergleicht man die Formeln der in ihrer Konstitution sicher erkannten Alkaloide des Tabaks, z. B. des Anatabins (II) und des Nicotins (III),



I



II



III

so erkennt man, daß ihnen allen ein Pyridinring gemeinsam ist, welcher in seiner β-Stellung mit einem weiteren Heterocyclus verknüpft ist, und zwar so, daß er in die α-Stellung des zweiten Ringes eingreift. Besondere Beachtung verdienen dabei jene fünf Tabak-Alkaloide, bei denen der zweite Heteroring wieder ein hydrierter oder nicht hydrierter Pyridinring ist, nämlich das in relativ großer Menge vorhandene *l*- und *d,l*-Anatabin (II), sein N-Methylderivat, das *l*- und *d,l*-Anabasin und sein N-Methylderivat, schließlich das als einziges Bipyridyl im Tabak vorkommende α,β'-Bipyridyl, welches zugleich im Sinne der chemischen Systematik die Muttersubstanz der übrigen aufgezählten Alkaloide vorstellt. Wir vermuteten nun, daß diese Gruppierung auch im Nicotellin vorkommen müsse; da kein anderes tricyclisches Alkaloid im Tabak nachgewiesen worden ist, konnte über die Verknüpfung des dritten Pyridylrestes zunächst nichts ausgesagt werden. Wir nehmen nun aber an, daß die Verwandtschaft der Tabakalkaloide darauf zurückzuführen ist, daß sie aus einer gemeinsamen Vorstufe entstehen, und daß dieser gemeinsame Baustein einen in β-Stellung substituierten Pyridinring enthält, sei es in hydrierter, sei es in partiell oder ganz dehydrierter Form. Aus diesem gemeinsamen Baustein würden dann durch Anbau weiterer Gruppen die 5- bzw. 6-Ringe entstehen, welche wir in Formel II und III explizit formuliert haben; diese Ringe könnten also einen wesentlich anderen Ursprung haben als der „gemeinsame Baustein", den wir als irgendwie präformiert auffassen. Zu einem Terpyridyl müßte aber dann ein Weg führen, bei welchem der „präformierte Baustein" zweimal eingebaut wird, wieder in der charakteristischen α-Stellung zum Ringstickstoff des nunmehr das Mittelstück des Moleküls bildenden „andersartigen" Ringes: diesen Bedingungen genügt aber als wahrscheinlichste Formel des Nicotellins nur eines der möglichen 48 Terpyridyle, nämlich das der Formel I.

Unsere Vermutungen betreffs der Biogenese der Nicotiana-Alkaloide weichen wohl mindestens teilweise von denen von *Robinson* ab, aber doch nicht mehr als die von *Schöpf*, von welchen sich unsere wieder unterscheiden; schließlich ist wichtig, daß Nicotinsäure selbst als physiologischer Vorläufer des Nicotins durch Versuche mit isotop markierter Nicotinsäure ausgeschlossen werden darf[10]. Die Biogenese der Tabakalkaloide ist auch mit der der Hygringruppe, dem Hyoscin-, dem Matrin- und dem Lupinintyp verknüpft worden[11].

Da unser Hypothesengebäude vielleicht noch nicht den Einsatz des schwer zugänglichen Naturstoffes rechtfertigte, haben wir uns erst synthetischen Arbeiten zugewandt, und zwar versuchten wir durch eine auf den Wegen der *Hantzsch-Tschitschibabin*schen Methoden verlaufende Synthese das 3,2′;6′,3″-Terpyridyl (I) zu synthetisieren, und dann eine nach den Grundsätzen von *Schöpf*s „Synthesen unter zellmöglichen Bedingungen" operierende Synthese.

Der zuerst genannte Weg wird besonders durch neuere amerikanische Arbeiten nahegelegt, welche z. B. die Synthese des 2,4,6-Tri-β-pyridylpyridins, also eines Quaterpyridyls (IV) beschreiben, indem 2 Moleküle 3-Acetopyridin mit einem Molekül Nicotinsäurealdehyd und 1 Molekül Ammoniak in Acetatpuffer kondensiert wurden[12]. Für die von uns gewünschte Verbindung war also nur der Nicotinsäurealdehyd gegen Formaldehyd zu ersetzen. Allerdings haben Versuche von *R. Frank*[13] ergeben, daß die Reaktion auf aromatische Aldehyde beschränkt ist, weil insbesondere Formaldehyd Verharzung ergibt.

Deshalb haben wir zunächst versucht, auf diesem Wege das dem Terpyridyl I entsprechende 2,6-Diphenylpyridin zu synthetisieren. Die Synthese gab mit allerdings präparativ unbefriedigender Ausbeute ein Gemisch zweier Basen, welche über die Pikrate getrennt werden konnten: dem schwerer löslichen Pikrat entsprach eine Base, welche zwar den Schmelzpunkt des erwarteten 2,6-Diphenylpyridins aufwies, doch bewies der Schmelzpunkt des Pikrates, daß es sich um eine andere Base handeln muß. Da die durchgeführte Synthese bekanntlich nicht nur zu 2,6-disubstituierten Pyridinen führen kann, sondern auch zu den 2,4-Isomeren[13,14], liegt hier offenbar das 2,4-Diphenylpyridin vor. Das leichter lösliche Pikrat war das des 2,6-Diphenylpyridins. Die beiden Basen waren auch papierchromatographisch deutlich verschieden.

---

[10] *R. F. Dawson, D. R. Christman* und *Ch. Anderson*, J. Amer. Chem. Soc. **75**, 5114 (1953).

[11] *C. Schöpf*, Naturwiss. **38**, 186 (1951); Ann. Chem. **518**, 127 (1935). — *P. I. Mortimer*, Nature **172**, 74 (1953).

[12] *M. Weiss*, J. Amer. Chem. Soc. **74**, 200 (1952).

[13] *R. L. Frank* und *E. F. Riener*, J. Amer. Chem. Soc. **72**, 4182 (1950).

[14] *R. L. Frank* und *R. P. Seven*, J. Amer. Chem. Soc. **71**, 2631 (1949).

Jedenfalls war klargestellt, daß auch Formaldehyd verwendet werden kann.

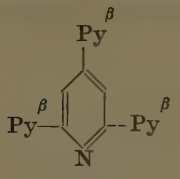
Im Hauptversuch wurde nun 3-Acetopyridin mit Formaldehyd und Ammoniak-Eisessigpuffer umgesetzt. Aus dem Reaktionsgemisch konnte eine Base isoliert werden, deren Analyse auf ein Terpyridyl stimmte, die aber niedriger (109 bis 111°) schmolz als Nicotellin und deren Salze zum Teil andere Schmelzpunkte zeigten als die des Alkaloides; auch der R_F-Wert im Papierchromatogramm war von dem des Nicotellins deutlich verschieden. Wir haben auch von dieser Verbindung das Infrarotspektrum untersucht und es mit dem des Nicotellins sowie den gut bekannten Bipyridylen sowie anderen substituierten Pyridinderivaten verglichen. Das synthetische Produkt zeigte Bande, welche auf in Stellung 2, 3 und 4 substituierte Pyridinringe hinwiesen, d. h. es entsprach einer Formulierung nach Formel V (2,4-Di-β-pyridylpyridin). Im Infrarotspektrum des natürlichen Nicotellins waren die gleichen Gruppen nachweisbar, ausgenommen jene Absorptionen, welche mit der γ-Stellung eines Substituenten in Beziehung zu bringen waren, weil sie, mit etwa doppelter Intensität wie im synthetischen Terpyridyl V, auch im γ,γ'-Bipyridyl, aber nicht in den übrigen untersuchten Bipyridylen (α,α'-, α,β'-, β,β'-) vorhanden waren. In Übereinstimmung mit unserer Erwartung zeigt das Infrarotspektrum des Nicotellins (I) höhere Symmetrie an als das des synthetischen Produktes V. Das Infrarotspektrum kann somit als wertvoller Beweis für die Konstitution des Nicotellins als 3,2′;6′,3″-Terpyridyl (I) gewertet werden. Auch der gerade auch bei den Bipyridylen erfüllten Regel, daß die symmetrischere Verbindung höher schmilzt als ihre Isomeren[15], würde diese Zuordnung entsprechen. Schließlich ist das Pikrat von V ein Dipikrat.

Wir haben daraufhin unsere Vorstellungen über die Entstehung des Nicotellins in der Pflanze weiter entwickelt; zu den üblicherweise für solche Synthesen in Betracht zu ziehenden Stoffen gehören Aldehyde und Ketosäuren. Für den oben postulierten β-Pyridylbaustein kommt, wie besprochen, die Nicotinsäure nicht in Betracht; wir haben an ihren Aldehyd, auch an die zwar nicht beschriebene, vielleicht aber gar nicht so sehr unbeständige β-Pyridyl-glyoxylsäure (VI) gedacht, und zwar würden 2 Moleküle dieser Verbindung zum Aufbau von I benötigt. Als zweite Komponente ergibt sich dann die sehr oft für solche Synthesen herangezogene Acetondicarbonsäure. Unter spontaner Decarboxylierung käme man von diesen Grundstoffen aus zu einem Zwischenprodukt VII. Dieses könnte nach Reduktion der Piperidon-CO-gruppe zu CHOH Wasser abspalten, wodurch eine ungesättigte Verbindung VIII entstünde, die durch weitere Dehydrierung das Terpyridyl I ergeben würde. Natürlich

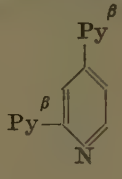
---

[15] *E. R. Ward* und *L. A. Day*, Research **5**, 439 (1952).

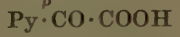
käme auch direkte Reduktion der CO-Gruppe zu CH_2 mit anschließender Dehydrierung zu I in Frage. Was uns aber an dem Zwischenprodukt VIII besonders interessierte, war die Lage der Doppelbindung, denn gerade diese Lage wurde im Anatabin (II), dem unter den Nebenalkaloiden des Tabaks vorwaltenden Produkte, nachgewiesen[16].



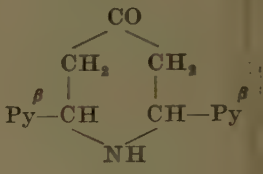
IV



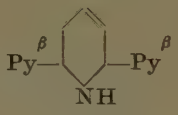
V



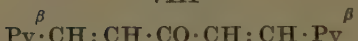
VI



VII



VIII



IX

Wir haben nun eine Versuchsreihe angesetzt, in welcher Nicotinaldehyd mit Aceton-dicarbonsäure und Ammoniak in gepufferter Lösung, also unter den von *Schöpf* eingehend untersuchten Bedingungen zur Reaktion gebracht wurde. Dieser synthetische Weg wäre wichtig gewesen, weil er für die Konstitution des entstehenden Terpyridyls beweisend gewesen wäre. Alle Versuche bei mittlerem pH (5 bis 8) ergaben ein und dasselbe Produkt, dem man nach dem angewandten synthetischen Wege und der durch Analyse ermittelten Bruttoformel die Struktur IX zuschreiben muß. Es ist also nicht mit dem erwarteten Produkt VII identisch, sondern unterscheidet sich von ihm dadurch, daß das NH_3 nicht in das Endprodukt eingebaut wurde[17]. Versuche, NH_3 wenigstens nachträglich in das Molekül einzubauen, haben bisher keinen Erfolg gehabt.

Experimenteller Teil.

Untersuchungen am natürlichen Nicotellin.

Analysen des im Hochvak. sublimierten Alkaloides ergaben:

C 77,38	H 5,02	(*Pictet* und *Rotschy*[1])
76,85	4,50	(*Kuffner*, nicht veröffentlicht, 1931)
77,20	4,87	„ „ „ „
77,0	4,7	(*Schoeller*)

[16] *E. Späth* und *F. Kesztler*, Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 239 (1937).

[17] Die Reaktion verläuft also unter den gewählten Bedingungen anders als unter denen der Synthesen von *P. Petrenko-Kritschenko* (Ber. dtsch. chem. Ges. **39**, 1358 [1906]).

Ber. C 77,23 4,75 für $C_{15}H_{11}N_3$ (MG ber. 233,26)
76,90 5,16 für $C_{10}H_8N_2$ (MG ber. 156,18)

Molekulargewicht in Campfer bzw. Campferchinon:

Gef. 195, 266, 271.

Der R_F-Wert des Nicotellins, aufsteigend auf Schleicher & Schüllpapier 2043a mit dem Gemisch von *Porter*, *Naghski* und *Eisner*[18] Butanol-Benzol-Acetatpuffer (pH 5,7) lag bei 0,78; mit Bromcyan und Benzidin ergibt die Base violette *König*-Reaktion.

Analyse des Goldsalzes (Schmp. 203 bis 204°; *Kofler*block).

Gef. Kristallwasser 3,41%, Au 41,37% (Analyse *E. Späth*).

Ber. $C_{15}H_{11}N_3 \cdot 2\,HAuCl_4 \cdot 2\,H_2O$: Wasser 3,79, Au 41,55.

Nicotellinpikrat fällt in methylalkohol. Lösung als hellgelbes Gel, das beim Erwärmen auf dem Wasserbad kristallisiert. Nach Umlösen aus Methanol liegt sein Schmp. bei 219° u. Zers.[4].

Aus dem Pikrat konnten präparativ (im Halbmikromaßstab) 60,8% Pikrinsäure isoliert werden, ber. für $C_{15}H_{11}N_3 \cdot 2\,C_6H_3O_7N_3$: 66,3%. Nach der Methode von *Kuffner* und *Schick*[19] gab auch das Pikrat den R_F-Wert 0,78 für das Alkaloid.

Ein vorhandenes Bromhydrat (Schmp. 253°; *Kofler*block) enthielt 41,2% Br, ber. $C_{15}H_{11}N_3 \cdot 2\,HBr$: 40,5%.

Synthese des 2,4- und des 2,6-Diphenylpyridins.

25 g Acetophenon, 18 g 38%iger Formaldehydlösung, 100 g Ammonacetat und 300 g Eisessig wurden 1 Std. unter Rückfluß gekocht. Die homogene Lösung wurde dann mit Wasser verdünnt und weitgehend eingedampft. Das Kondensat wurde auf dem Wasserbade mit 2 n H_2SO_4 digeriert, filtriert und das Filtrat mit 5 n NaOH alkalisch gemacht. Die braune, ölige Abscheidung wurde in Chloroform aufgenommen, die Lösung mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingedampft. Der Rückstand ging bei 4 Torr und etwa 130° (Luftbadtemp.) als teilweise kristallisierendes Öl über (3,8 g). Durch Umsetzung mit alkohol. Pikrinsäure wurde ein Rohpikrat gefällt, das durch fraktionierte Kristallisation ein schwerer lösliches Pikrat vom Schmp. 194° (*Kofler*block; bei etwa 170° ist ein Umwandlungspunkt erkennbar) und ein leichter lösliches vom Schmp. 170° ergab.

Analyse des Pikrates vom Schmp. 194°:

$C_{17}H_{13}N \cdot C_6H_3O_7N_3$. Ber. C 60,00, H 3,50. Gef. C 60,45, H 3,85.

Die aus dem leichter löslichen 2,6-Diphenylpyridinpikrat erhältliche Base haben wir nicht zur Kristallisation gebracht. Aus dem schwerer löslichen 2,4-Diphenylpyridinpikrat, Schmp. 194° erhielten wir durch Zersetzung mittels Colamin das bald kristallisierende 2,4-Diphenylpyridin (Schmp. nach Hochvakuumdestillation und Umkristallisieren aus Alkohol-Wasser: 79 bis 81°; *Kofler*block).

Im aufsteigenden Papierchromatogramm auf Schleicher & Schüllpapier 2043a zeigte bei Gegenwart einer Spur Essigsäure das 2,6-Diphenylpyridin

---

[18] *W. L. Porter*, *J. Naghski* und *A. Eisner*, Arch. Biochemistry 24, 461 (1949).

[19] *F. Kuffner* und *K. Schick*, Fachl. Mitt. Österr. Tabak-Regie, im Druck.

mit Wasser als Solvens einen R_F-Wert von 0,46, mit 80%igem wäßr. Dioxan 0,77. Die entsprechenden Werte für das unter gleichen Bedingungen aufgenommene 2,4-Diphenylpyridin waren 0,25 bzw. 0,59. Die Basen geben keine *König*-Reaktion, sie wurden mit alkohol. Jodlösung sichtbar gemacht.

Synthese des 2,4-Di-β-pyridyl-pyridins (3,2';4',3''-Terpyridyls, Formel V).

10 g 3-Acetylpyridin, 7 g 38%iger Formaldehydlösung, 42 g Ammonacetat und 100 ml Eisessig wurden 2 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Dann wurde mit der gleichen Menge Wasser verdünnt, etwa 80 ml abdestilliert, mit 2 n NaOH alkalisch gemacht und die Base in Chloroform aufgenommen. Sie ging nach einem Vorlauf von Acetylpyridin bei 2 Torr und 180 bis 200° (Lufttemperatur) über. Durch Fällung mit Pikrinsäure (in Alkohol) wurden 6 g Dipikrat erhalten, dessen Schmp. durch Umkristallisieren aus Alkohol auf 203 bis 206° (*Kofler*block) gebracht wurde.

Das 2,4-Di-β-pyridylpyridin-dipikrat wurde mit Diäthanolamin zersetzt, das Terpyridyl mit Chloroform aufgenommen und durch Abdampfen des Lösungsmittels und Stehen im Eisschrank zur Kristallisation gebracht. Schmp. nach nochmaliger Hochvakuumdestillation und Umkristallisieren aus absol. Äther: 109 bis 111° *(Kofler)*. Erst nach gründlichem Trocknen bei 0,5 Torr und 80° gibt die Base die letzten Lösungsmittelspuren ab und liefert dann folgende Analysenzahlen:

$C_{15}H_{11}N_3$. Ber. C 77,23, H 4,75. Gef. C 77,05, H 5,06.

Bei aufsteigender Chromatographie auf Schleicher & Schüll-Papier 2043a liefert das 2,4-Di-β-pyridylpyridin unter den beim Nicotellin beschriebenen Bedingungen einen R_F-Wert von 0,82; die *König*-Reaktion ist ebenfalls violett.

Infrarotspektren des Nicotellins (I) und des 2,4-Di-β-pyridyl-pyridins (V).

Das Infrarotspektrum des Nicotellins weist auf höhere Symmetrie hin als das des 2,4-Di-β-pyridylpyridins. Beide Spektren weisen im kurzwelligen Gebiet die für CH_3, CH_2, NH_2 und NH bekannten Absorptionen nicht auf. Sie zeigen Linien, welche im α,α'-, α,β'-, sowie β,β'-Dipyridyl ausgeprägt sind und auch durch Vergleich mit anderen substituierten Pyridinen der α- bzw. β-Substitution im Pyridinring zugeschrieben werden können. Absorptionen bei 11,72 und 13,56 μ, welche im 2,4-Di-β-pyridylpyridin, aber nicht im Nicotellin vorhanden sind, finden sich (in etwa doppelter Intensität) nur im γ,γ'-Dipyridyl; sie sind also offenbar für den γ-substituierten Pyridinring charakteristisch. Die Spektren sind also den Isomeren I bzw. V in der oben angegeben Zuordnung zuzuschreiben.

Versuche, das 2,6-Di-β-pyridyl-pyridin I (Nicotellin?) unter sog. physiologischen Bedingungen zu synthetisieren.

Wir beschreiben nur kurz Versuche, welche bei pH 5 (in Citratpuffern) und pH 6, 7, 8 (in Phosphatpuffern) ausgeführt wurden. Die Ansätze enthielten je 0,5 g Nicotinaldehyd (Pyridin-3-aldehyd); sie wurden hinsichtlich des Aldehyds auf $\frac{m}{21}$, hinsichtlich der Acetondicarbonsäure auf $\frac{m}{42}$ eingestellt und enthielten je $\frac{m}{13}$ Ammonchlorid und $\frac{m}{15}$ Phosphatpuffer bzw. $\frac{m}{10}$ Citratpuffer in der endgültigen Versuchslösung.

Aufarbeitung erfolgte nach mindestens 2wöchigem Stehen bei 15 bis 20°. Um sichere Decarboxylierung zu erreichen, wurde jeder Ansatz 30 Min. gekocht, dann mit 100 g Pottasche ungefähr gesättigt, die unter starker CO_2-Entwicklung ausgeschiedene braune Masse im Ätherextraktor mittels Chloroform extrahiert (Chloroform bildet auf dieser Lösung die obere Schicht!), der Extrakt bei 0,4 Torr im Dreikugelrohr destilliert. Die bei 140 bis 180° übergehende Hauptfraktion kristallisierte, enthielt aber, wie im Papierchromatogramm leicht festzustellen, Nicotinsäure und drei weitere Verbindungen, welche positive *König*-Reaktion geben (Pyridinderivate mit freien α-Stellungen in der Regel). Durch Umlösen aus Äther konnte eine ziemlich einheitliche Verbindung, Schmp. 145 bis 148° *(Kofler)* gewonnen werden, die im aufsteigenden Papierchromatogramm unter den beim Nicotellin angegebenen Bedingungen ein R_F von 0,77 zeigte, im Lichte der Analysenquarzlampe blaugrau fluoreszierte und violette *König*-Reaktion gab (die hartnäckigste Verunreinigung, R_F 0,83, fluoresziert nicht und gibt rosa *König*-Reaktion). Die Analysen dieser Verbindung sind nicht befriedigend, weisen aber auf das 1,5-Di-β-pyridyl-pentadien-(1,4)-on-(3) (Formel IX) hin.

$C_{15}H_{12}N_2O$.	Ber. C 76,25,	H 5,12,	N 11,86.
	Gef. C 75,27, 75,10;	H 5,18, 5,22;	N 11,78.

Die Verbindung gibt mit *Brady*-Reagens ein kristallisiertes 2,4-Dinitrophenyl-hydrazon[20], Schmp. 181 bis 183° und Zers., aber keine *Duke*-Reaktion[21] auf sekundäre Amine, wie sie von Verbindung VII erwartet werden müßte.

Das Chlorhydrat schmolz ohne weitere Reinigung bei 200 bis 205° *(Kofler)*, das Bromhydrat zersetzte sich bei 270°, das aus saurer Lösung gefällte Reineckat bleibt bis über 340° ungeschmolzen, das Pikrat schmilzt bei 205°, das Styphnat bei 218 bis 221°, das Pikrolonat bei 238° (Zers.).

Versuche, durch Stehenlassen mit flüssigem Ammoniak eine Ammoniakanlagerung an IX unter Bildung von VII zu erzielen, wurden unter Bedingungen, wie sie zur Umwandlung von Phoron in Triacetonamin gebräuchlich sind, angestellt, doch wurde nur die eingesetzte Base wiedergewonnen.

C,H- und N-Bestimmungen, bei welchen nicht ausdrücklich andere Analytiker genannt wurden, hat Herr Dr. *G. Kainz* am hiesigen Institute ausgeführt.

Die vorliegende Arbeit wurde von der Austria Tabakwerke A. G. großzügig unterstützt[22]. Wir danken hierfür herzlichst, ferner danken wir der Dr. F. Raschig G. m. b. H. für die Überlassung von Nicotinaldehyd, den Herren Dr. *H. Tschamler*, *R. Leutner* und *F. Grass* für die Aufnahme und Interpretation der Infrarotaufnahmen und Herrn Dr. *J. Derkosch* für die Durchführung der potentiometrischen Titration.

[20] *O. L. Brady*, J. Chem. Soc. London **1931**, 756.

[21] *F. R. Duke*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Edit. **17**, 196 (1945).

[22] Österr. Chem.-Ztg. **53**, 94 (1952). — Fachl. Mitt. Österr. Tabak-Regie **1952/III**, 23.

Binäre Systeme von Carcinogenen und verwandten Verbindungen in Beziehung zur krebserzeugenden Wirksamkeit: Mehrkernige aromatische Verbindungen, I*[1,2].

Von

A. Müller, P. Görlich und L. Kahofer.

Aus dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 26. April 1954.)

Mit 10 Abbildungen.

Soweit aus den wenigen in der vorliegenden Arbeit untersuchten Systemen geschlossen werden kann, scheint es, daß eine Hemmung der Wirkung eines starken Carcinogens durch eine beigemischte schwach oder vielleicht auch nicht carcinogene strukturverwandte Verbindung bei Mischkristallbildung als wahrscheinlicher zu erwarten ist als im Falle eines einfachen Eutektikums.

Einleitung und Allgemeines.

In den letzten etwa 10 Jahren wurde eine Reihe von binären Gemischen aus mehrkernigen aromatischen Kohlenwasserstoffen und verwandten Verbindungen von verschiedenen Autoren auf carcinogene Eigenschaften im Tierversuch geprüft. Die hierbei öfters beobachtete Hemmung der Wirkung eines starken durch ein schwaches, strukturell ähnliches Carcinogen hat man durch Konkurrenz der beiden Agenzien um Plätze an Rezeptoren zu erklären versucht[3].

Die Molekeln mehrkerniger aromatischer Verbindungen besitzen in Kristallen, Schmelzen und Lösungen im wesentlichen dieselbe Gestalt.

---

* Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zum 60. Geburtstag herzlich gewidmet.

[1] 5. Mitteilung über Carcinogene und strukturverwandte Verbindungen. 4. Mitteilung: Krebsarzt 5, 267 (1950).

[2] Vorgetragen von *A. M.* auf der Südwestdeutschen Chemie-Dozententagung in Erlangen am 30. April 1954. — Über die ersten Ergebnisse dieser Arbeit wurde auf der Krebs-Tagung in München 1953 berichtet: Krebsarzt 8, 264 (1953).

Daher scheint es zulässig, aus thermischen Analysen solcher binärer Systeme auf das Verhalten der Molekeln in Lösungen, die für die Krebserregung in Betracht kommen, zu schließen: in Fällen von Mischkristallbildung ist eine wechselseitige Vertretbarkeit der beiden Molekelarten an Rezeptoren als wahrscheinlicher anzusehen als bei Stoffpaaren, die einfache Eutektika ergeben. Dies wird seit längerer Zeit für biologisch in verschiedener Beziehung ähnlich oder antagonistisch wirksame Verbindungen angenommen[4].

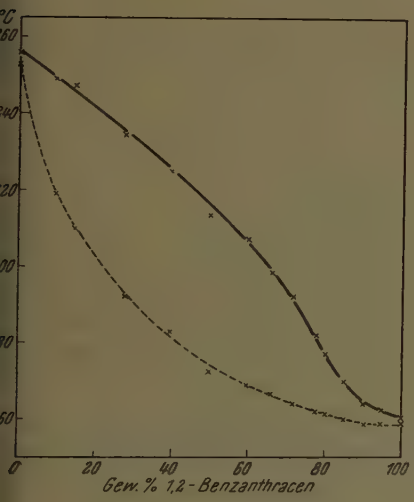


Abb. 1. Chrysen—1,2-Benzanthracen.

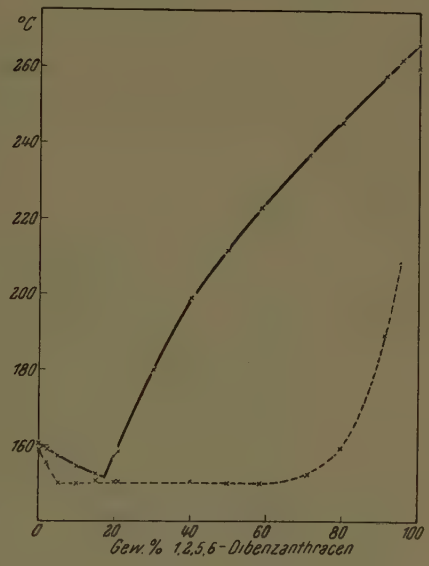


Abb. 2. 1,2-Benzanthracen—1,2,5,6-Dibenzanthracen.

Wir haben eine Reihe von binären Systemen mittels der Mikrothermoanalyse untersucht und die in den Abb. 1 bis 10 veranschaulichten Ergebnisse mit der aus der Literatur bekannten krebserzeugenden Wirksamkeit der entsprechenden Gemische und Komponenten versuchsweise in Beziehung gebracht. Die herangezogenen Tierversuche wurden durchwegs an Mäusen einheitlicher Stämme, wo nicht anders angegeben, durch oft wiederholtes Auftragen der zu prüfenden Gemische bzw. Komponenten in Lösungsmitteln auf die interscapulare Haut ausgeführt.

---

[3] *A. Lacassagne, Buu-Hoï* und *G. Rudali*, Brit. J. exp. Pathol. **26**, 5 (1945).

[4] *R. Kuhn*, Chemie (Angew. Chem.) **55**, 6 (1942). — *H. Lettré*, Ergebnisse der Enzymforschung, herausgegeben von *R. Weidenhagen* **9**, S. 9. Leipzig. 1943.

Biologische und thermoanalytische Ergebnisse.

Systeme mit lückenloser bzw. beschränkter Mischbarkeit.

P. E. Steiner und *H. L. Falk*[5] prüften die nachstehenden Verbindunge bzw. deren Gemische (in Tricaprylin) durch einmalige subcutane Injek tionen in die interscapulare Gegend Das Gemisch der schwachen Carc nogene Chrysen und 1,2-Benzan thracen (je 2,5 mg), welches de

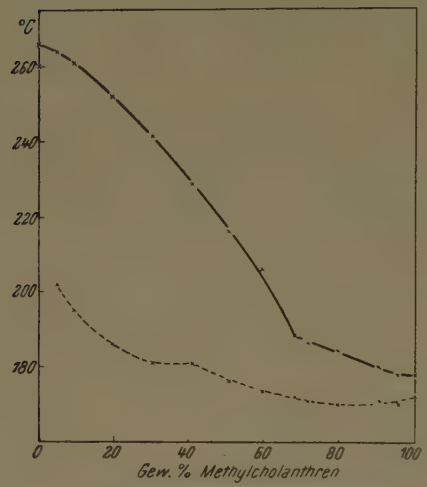


Abb. 3. 1,2,5,6-Dibenzanthracen—Methylcholanthren.

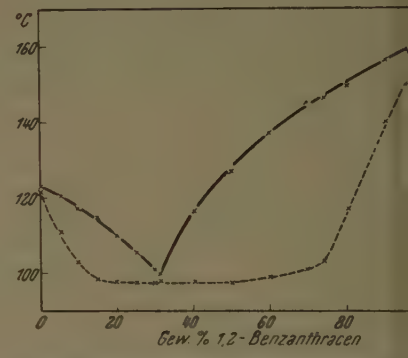


Abb. 4. 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracen—1,2-Benzanthracen.

Typ I *Roozeboom* entspricht (Abb. 1), zeigte einen sehr deutlich übe additiven Effekt, bezogen auf die Komponenten. Das Gemisch 1,2 Benzanthracen (5,0 mg) und 1,2,5,6-Dibenzanthracen (0,02 mg) — Typ (Abb. 2) — ergab eine ungefähr halb so große Tumorausbeute wie di Summe der Tumorausbeuten der Komponenten. Die starken Carcinogen 1,2,5,6-Dibenzanthracen und Methylcholanthren (je 0,02 mg) — Typ I (Abb. 3) — verhielten sich nahezu additiv.

Demgegenüber fanden *W. B. Wartman*[6] und Mitarbeiter bei eine anderen Applikationsart — Auftragen einer Acetonlösung von 1,2,5,6 Dibenzanthracen und Methylcholanthren (Konzentrationsverhältnis 2 : 1 auf die Haut — eine Verlängerung der mittleren Latenzperiode von Methy cholanthren durch das für sich schwächer wirksame 1,2,5,6-Diben anthracen.

A. Lacassagne[7] und Mitarbeiter und ebenso *W. B. Wartman*[8] und Mi

[5] *P. E. Steiner* und *H. L. Falk*, Cancer Research **11**, 56 (1951).

[6] *W. T. Hill*, *D. W. Stanger*, *A. Pizzo*, *B. Riegel* und *W. B. Wartma* Cancer Research **12**, 270 (1952).

[7] *G. Rudali*, *Buu-Hoï*, *A. Lacassagne* und *J. Lecocq*, C. r. soc. biol. Par **140**, 234 (1946).

[8] *W. T. Hill*, *D. W. Stanger*, *A. Pizzo*, *B. Riegel*, *Ph. Shubik* und *W. Wartman*, Cancer Research **11**, 892 (1951).

arbeiter stellten eine Hemmung der starken Wirkung von 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracen durch das viel schwächer aktive 1,2-Benzanthracen (Konz. 1 : 1 bzw. 1 : 2) fest; System mit beschränkter Mischbarkeit nach

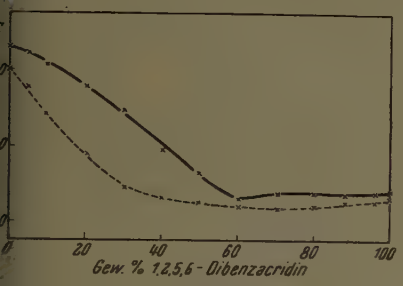


Abb. 5. 1,2,5,6-Dibenzanthracen—1,2,5,6-Dibenzacridin.

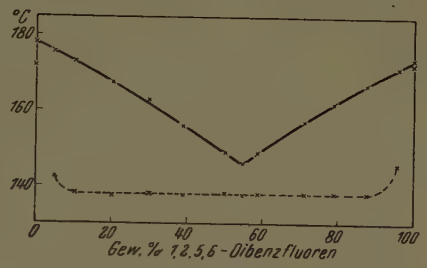


Abb. 6. Methylcholanthren—1,2,5,6-Dibenzfluoren.

Typ V (Abb. 4). Nach *A. Lacassagne*[3] und Mitarbeitern verzögert das schwache Carcinogen 1,2,5,6-Dibenzacridin die Krebserzeugung durch 1,2,5,6-Dibenzanthracen (Konz. 1 : 1). Dieses Stoffpaar bildet eine lückenlose Reihe von Mischkristallen nach Typ III (Abb. 5).

Systeme, die einfache Eutektika aufweisen.

Die krebserzeugende Wirkung von Methylcholanthren wird nach *A. Lacassagne*[3] und Mitarbeitern durch das wenig wirksame Carcinogen 1,2,5,6-Dibenzfluoren (Konz. 1 : 1) und schwach, aber deutlich auch durch Chrysen (Konz. 1 : 1) verzögert (Abb. 6 bzw. 7). Der erstere Befund wurde von *W. B. Wartman*[9] und Mitarbeitern bestätigt, während ein hemmender Einfluß des Chrysens nicht festgestellt werden konnte.

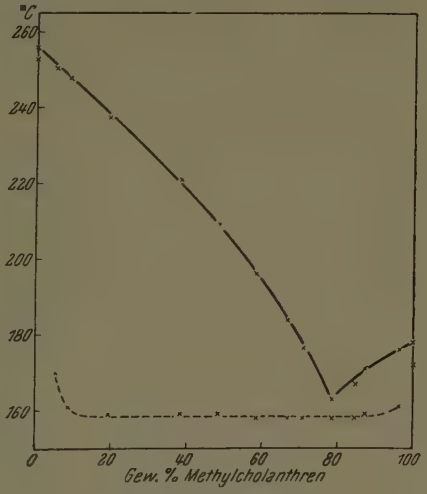


Abb. 7. Chrysen—Methylcholanthren.

Die genannten Autoren fanden ferner keinen verzögernden, vielmehr anscheinend einen schwach beschleunigenden Einfluß von Fluoren[9] (Konz. 1 : 1) auf die Krebserzeugung durch Methylcholanthren (Abb. 8),

[9] *B. Riegel, W. B. Wartman, W. T. Hill, B. B. Reeb, Ph. Shubik* und *D. W. Stanger*, Cancer Research **11**, 301 (1951).

eine hemmende Wirkung von 1,2,5,6-Dibenzfluoren[8] auf 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracen (Konz. 2 : 1) (Abb. 9), aber keinerlei Beeinflussung des letzteren durch Fluoren[8] (Konz. 1 : 2) (Abb. 10).

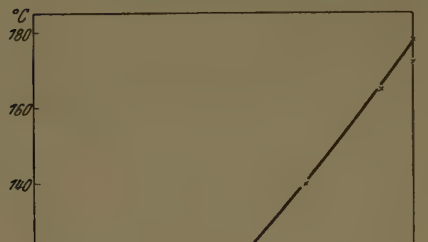


Abb. 8. Fluoren—Methylcholanthren.

Diskussion und Folgerungen

In der Beurteilung der obigen Tierversuche liegen zweifellos Schwierigkeiten, die in der Applikationsart, der Anwendung verschiedener Mischungsverhältnisse und Lösungsmittel, der Verschiedenheit der Mäusestämme und der einzelnen Tiere, der verschiedenen Anzahl der eingesetzten Tiere und anderen Einflüssen begründet sind.

Unter den 10 besprochenen Beispielen wird in 6 Fällen ein starkes Carcinogen durch eine beigemischte strukturell verwandte Substanz, die selbst den Charakter eines schwächeren Carcinogens besitzt, in seiner Wirkung gehemmt. Von diesen 6 Fällen zeigen 4 Mischkristallbildung und 2 einfache Eutektika. In 3 weiteren von den 10 Beispielen wird ein starkes Carcinogen durch die zusätzliche Verbindung nicht gehemmt, in allen 3 Fällen liegen einfache Eutektika vor. Das noch übrige Beispiel Chrysen + 1,2-Benzanthra-

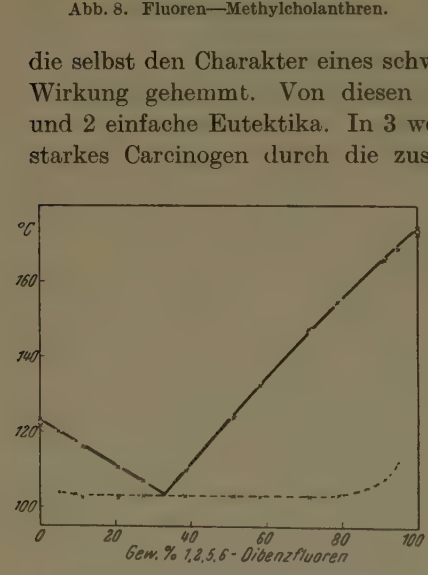


Abb. 9. 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracen—1,2,5,6-Dibenzfluoren.

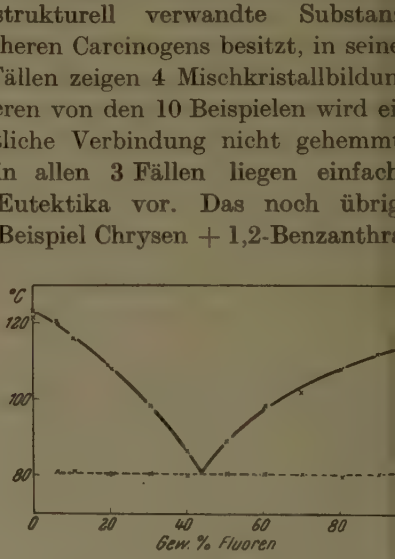


Abb. 10. 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracen—Fluoren.

cen (Abb. 1), welches einen sehr deutlich überadditiven Effekt zeigt, weist lückenlose Mischbarkeit auf. (Dieser Effekt ist nach Angabe der Autoren[5] entweder durch Überdosierung oder durch Synergismus zu erklären und bedarf noch weiterer Untersuchung.)

Sofern man aus den wenigen Beispielen Schlüsse ziehen darf, scheint es, daß für die Hemmung eines starken Carcinogens durch eine beigemischte schwach oder vielleicht auch nicht carcinogene strukturverwandte Verbindung eine zur Mischkristallbildung noch nicht ausreichende Ähnlichkeit der Molekeln genügen kann, wie die Hemmung von Methylcholanthren oder 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracen durch 1,2,5,6-Dibenzfluoren (Abb. 6 bzw. 9) erkennen läßt. (Eine eventuelle sehr geringe Mischbarkeit nach Typ V kann allerdings durch die Thermoanalyse nicht erfaßt werden[10].) Ferner scheint es, daß in Fällen von Mischkristallbildung ein hemmender Einfluß einer solchen Beimischung mit mehr Wahrscheinlichkeit erwartet werden kann als in Fällen einfacher Eutektika.

Die Untersuchung weiterer Beispiele von Gemischen aus Carcinogenen und verwandten Verbindungen aus der Literatur mittels der Mikrothermoanalyse ist im Gange.

Experimenteller Teil.

Untersuchte Substanzen. Die starken Carcinogene 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracen, Methylcholanthren und 1,2,5,6-Dibenzanthracen wurden von den Firmen F. Hoffmann-La Roche & Co., Basel, und Eastman Kodak Comp., Rochester N. Y., bezogen. Sie zeigten die Schmelzpunkte der Literatur und konnten ohne weiteres verwendet werden. 1,2-Benzanthracen bereiteten und reinigten wir nach *J. W. Cook* und *G. M. Badger*[11]. Chrysen von der Gesellschaft für Teerverwertung, Duisburg, und käufliches Fluoren wurden durch Umkristallisieren aus Toluol bzw. Alkohol gereinigt. Sehr reine Proben von 1,2,5,6-Dibenzfluoren und 1,2,5,6-Dibenzacridin verdanken wir der Freundlichkeit von Prof. *J. W. Cook*, Glasgow. Eine weitere sehr reine Probe von 1,2,5,6-Dibenzfluoren wurde uns von Prof. *E. D. Bergmann*, Tel Aviv, in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt.

Die Auftau-Schmelzdiagramme der Abb. 1 bis 10 ermittelten wir mit Hilfe der Mikromethoden von *A. Kofler*[12] (Laboratoriumsmikroskop der Firma C. Reichert, Wien, mit Original-*Kofler*-Mikroheiztisch; Objektiv 3, 10 : 1 (Achromat), N. A. 0,25; Huygens-Okular IV, 9×, bzw. II, 5×).

Zur Bestimmung der Endschmelzpunkte bis zum Bereich von etwa 160° (Abb. 4 und 10) bedienten wir uns der von *A. Müller* und *W. Ruzha*[13] angegebenen Rührvorrichtung (Zusatzgerät der Firma C. Reichert, Wien, für den Original-*Kofler*-Mikroheiztisch). Für die Diagramme mit den hochschmelzenden Carcinogenen und bei den fluorenreichsten Gemischen wurden die Beobachtungen in zugeschmolzenen Röhrchen im Metallblock nach *L. Kofler* und *M. Brandstätter*[14] vorgenommen.

---

[10] *H. Rheinboldt* und *M. Kircheisen*, J. prakt. Chem. (N. F.) **113**, 200 (1926).

[11] *J. W. Cook* und *G. M. Badger*, J. Chem. Soc. London **1939**, 804.

[12] *A. Kofler*, Naturwiss. **31**, 553 (1943). — *L. Kofler* und *A. Kofler*, Thermo-Mikro-Methoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische, 3. Aufl. Innsbruck: Universitätsverlag Wagner. 1954.

[13] *A. Müller* und *W. Ruzha*, Mikrochem. **40**, 60 (1952).

[14] *L. Kofler* und *M. Brandstätter*, Mikrochem. **33**, 20 (1948).

Hierbei benutzten wir als Zusatzgerät eine Schüttelvorrichtung[15], die eine rasche und sichere Erfassung des Endschmelzpunktes von Gemischen und bei unzersetzt schmelzenden Substanzen auch dessen gute Reproduzierbarkeit ermöglicht.

Methylcholanthren weist eine beträchtliche Temperaturspanne zwischen Auftaupunkt und Endschmelzpunkt auf. Es zersetzt sich allmählich ab etwa 150°. Auf diesen Umstand mußte bei der Bestimmung der Auftaupunkte in höheren Temperaturlagen von Gemischen mit Methylcholanthren im Röhrchen Rücksicht genommen werden; die Endschmelzpunkte ließen sich dagegen an wiedererstarrten Proben trotz geringer Zersetzung (unter braunroter Verfärbung) gut reproduzieren. Auch 1,2,5,6-Dibenzanthracen schmilzt unter geringer Zersetzung.

Die vorliegende Arbeit wurde von der Österreichischen Akademie der Wissenschaften und der Österreichischen Gesellschaft für Erforschung und Bekämpfung der Krebskrankheit in Wien sowie von der *Van 't Hoff*-Stiftung in Amsterdam unterstützt. Hierfür sprechen wir unseren Dank aus.

[15] Über die Schüttelvorrichtung soll in einer späteren Mitteilung in der Mikrochim. Acta [Wien] berichtet werden.

Die Konstitution des Laburnins*.

Von

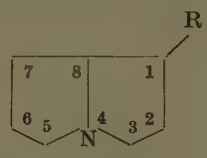
F. Galinovsky, O. Vogl und **H. Nesvadba.**

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 14. Dezember 1953.)

Durch Überführung des Laburnins in (+)-Pseudoheliotridan, die auf zweifache Weise gelang, wurde bewiesen, daß diesem Nebenalkaloid des Cytisins die Konstitution eines 1-Oxymethyl-pyrrolizidins (I) zukommt. Da die Konfiguration des Pseudoheliotridans bekannt ist, ist damit auch die des Laburnins gegeben.

In einer vor einigen Jahren erschienenen Arbeit[1] haben wir die Isolierung eines neuen, in geringer Menge vorkommenden Alkaloids aus dem Samen von Cytisus laburnum beschrieben, das wir Laburnin nannten. Versuche zur Konstitutionsaufklärung der Base ergaben, daß es sich um ein Oxymethyl-pyrrolizidin handelt. Obgleich die Ergebnisse des mit sehr geringen Mengen durchgeführten *Hofmann*schen Abbaues für die Stellung der Oxymethylgruppe am C-Atom 1 des Pyrrolizidinringes sprachen[2], war es notwendig, weitere sichere Beweise für das Vorliegen dieser Strukturformel (I) zu erbringen, worüber wir in dieser Arbeit berichten.



1: R = CH_2OH
II: R = CH_3
III: R = CH_2OTs
IV: R = CH_2Br
V: R = COOH

Am aussichtsreichsten für die Identifizierung mit einer bekannten Verbindung erschien die Reduktion des Laburnins zum Methyl-pyrrolizidin. Die beiden stereoisomeren 1-Methyl-pyrrolizidine (II), Heliotridan und Pseudoheliotridan, und auch ihre optisch aktiven Formen sind

* Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zum 60. Geburtstag in Verehrung gewidmet.

[1] *F. Galinovsky, H. Goldberger* und *M. Pöhm*, Mh. Chem. **80**, 550 (1949).

[2] *M. Pöhm*, Dissertation Universität Wien (1949).

[3] *N. J. Leonard* und *D. L. Felley*, J. Amer. Chem. Soc. **72**, 2537 (1950).

bekannt und synthetisch hergestellt worden[3]. Um die Möglichkeit einer auch nur teilweisen Racemisierung bei dieser Reaktion völlig auszuschließen, wurde zuerst die Reduktion des Laburnin-tosylats (III) mit $LiAlH_4$ versucht, eine Methode, die erstmals von *Schmid* und *Karrer*[4] zum Ersatz von primärem Hydroxyl durch Wasserstoff verwendet wurde. Bei der Tosylierung des Laburnins zeigte sich, daß sich das ätherlösliche Tosylat der Base bei längerem Stehen und beim Erwärmen in eine ätherunlösliche Verbindung umwandelt. Wir werden auf diese Umlagerung, die, wie sich bei Modellversuchen mit Lupinin erwies, in gleicher Weise das Tosylat des Lupinins zeigt, in einer späteren Arbeit noch zurückkommen. Um eine gute Ausbeute an Reduktionsprodukt zu erzielen, war es notwendig, die ätherische Lösung des Tosylats, ohne den Ester zu isolieren, sofort mit $LiAlH_4$ zu reduzieren. Es wurde so eine flüchtige Base erhalten, die in Äthanol eine spezifische Drehung von + 17,1° zeigte. Das Pikrat schmolz bei 234° u. Zers., das Pikrolonat bei 165°. Die Mischschmp. mit den bei gleicher Temperatur schmelzenden Derivaten des synthetischen (+)-Pseudoheliotridans[5] bewiesen die Identität des Abbauproduktes des Laburnins mit dieser Verbindung.

Es wurde nun auch die Umwandlung des Laburnins in Pseudoheliotridan durch Ersatz der OH-Gruppe durch Brom und katalytische Reduktion des Bromlaburnans (IV) mit PtO_2 und Wasserstoff in schwach ammoniakal-wäßr. Lösung durchgeführt. Das erhaltene Pseudoheliotridan zeigte die gleiche Drehung wie das aus dem Tosylat, auch das Pikrat besaß den oben angegebenen Schmp.

Wir hatten in unserer ersten Arbeit über das Laburnin das Alkaloid mit Chromsäure zur Laburninsäure (V) oxydiert und diese dann zum Pyrrolizidin decarboxyliert, ohne die Säure selbst zu isolieren. Wir tragen dies hier nach. Die Laburninsäure konnte nach der üblichen Aufarbeitung leicht kristallisiert erhalten werden. Das 1 Mol H_2O enthaltende Hydrat der Säure schmolz bei 215 bis 216°, die spezifische Drehung in Wasser betrug + 44,2°. Das Pikrat zeigte den Schmp. von 176°. Fast die gleichen Schmelzpunkte werden von *Menschikov* und Mitarbeitern[6] für die Trachelanthamidinsäure und ihr Pikrat angegeben, ihre Drehung beträgt — 43,4°. Sie ist also der der Laburninsäure fast gleich, nur von entgegengesetztem Vorzeichen. Diese Tatsachen lassen es als sicher erscheinen, das Laburnin und Trachelanthamidin, wie wir schon in der ersten Arbeit vermutet haben, optische Antipoden vorstellen.

---

[4] *H. Schmid* und *P. Karrer*, Helv. Chim. Acta **32**, 1371 (1949). — *P. Karrer* und *K. Ehrhardt*, ibid. **34**, 2202 (1951) und weitere Arbeiten.

[5] Wir danken Herrn Prof. *N. J. Leonard*, Urbana, Illinois, bestens für die Übersendung dieser Substanzen.

[6] *G. P. Menschikov*, Chem. Abstr. **41**, 3092 (1947). — *A. Ss. Labenski*, *N. A. Sserowa* und *G. P. Menschikov*, Chem. Zbl. **1953**, 4862.

Mit der Überführung des Laburnins in Pseudoheliotridan ist nicht nur die Konstitution (I) dieses Nebenalkaloids des Cytisins sichergestellt, sondern auch seine Konfiguration gegeben. *Leonard* und *Felley*[3] konnten nämlich durch Modellbetrachtungen am Anhydro-platynecin die sterische Anordnung der CH_3-Gruppen von Heliotridan und Pseudoheliotridan festlegen. Da im Pseudoheliotrodan die CH_3-Gruppe in cis-Stellung zum H-Atom an C-8 steht, so befindet sich auch im Laburnin die Oxymethylgruppe in cis-Stellung zum Wasserstoff der Methingruppe.

Experimenteller Teil.

Reduktion des Laburnins zum Laburnan [(+)-Pseudoheliotridan].

1. Über das Tosylat.

Laburnintosylat: 0,3 g frisch destilliertes Laburnin wurden in 2,45 ml absol. Pyridin gelöst, mit der Hälfte einer Lösung von 0,6 g p-Toluolsulfosäurechlorid in 3,7 ml absol. Pyridin versetzt und über Nacht bei 0° belassen. Nach Zusatz des Restes wurde 48 Stdn. bei Zimmertemp. stehen gelassen und dann am Wasserbad bei 50° und 50 Torr unter Durchleiten eines trockenen Luftstromes von dem überschüssigen Pyridin befreit. Der dunkelrotbraune ölige Rückstand wurde nun in Wasser gelöst, mit 5 ml 2 n HCl angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Die wäßr. Lösung wurde dann sodaalkalisch gemacht und erschöpfend mit Äther ausgezogen, mit KOH getrocknet und anschließend am Wasserbad auf ein Volumen von 30 ml eingeengt.

Reduktion des Tosylats mit $LiAlH_4$: Die ätherische Lösung des Tosylats wurde zunächst nochmals mit Na_2SO_4 getrocknet und dann mit 60 ml absol. Äther aufgenommen, 0,25 g $LiAlH_4$ eingeworfen und 7 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Nach dem Zersetzen mit Wasser wurde stark alkalisch gemacht und 4mal mit Äther ausgeschüttelt. Der Ätherrückstand ging bei der Destillation im Kugelrohr bei 12 Torr und 65 bis 75° Luftbadtemp. als farblose, heuartig riechende Flüssigkeit über. Ausbeute an Laburnan: 50—60% d. Th.

Drehung: $\alpha_D^{19} = +0{,}89°$ (absol. Äthylalkohol, $c = 5{,}2$, 1-dm-Rohr) $[\alpha]_D^{19} = +17{,}1°$.

Pikrat: Das Laburnan wurde in ätherischer Lösung mit äther. Pikrinsäurelösung gefällt, das Pikrat abgesaugt und mehrere Male mit Äther nachgewaschen. Aus Äthanol umkristallisiert zeigt das in gelben Blättchen kristallisierende Pikrat einen Schmp. von 234 bis 235° u. Zers.[7] Mischschmp. mit synthetischem (+)-Pseudoheliotridan-pikrat vom gleichen Schmp.: 234°.

Pikrolonat: Eine methanol. Lösung von Laburnan wurde mit der berechneten Menge Pikrolonsäure in Methanol versetzt und auf dem Wasserbad etwas eingeengt. Das auskristallisierte Pikrolonat wurde aus Methanol umgelöst und zeigte einen Schmp. von 165° u. Zers. Mischschmp. mit (+)-Pseudohelitridan-pikrolonat vom Schmp. 163°: 164° u. Zers.

2. Über das Bromid.

0,27 g Laburnin wurden mit 20 ml einer bei 0° gesättigten wäßr. Bromwasserstoffsäure versetzt und im Bombenrohr 6 Stdn. auf 100° erhitzt. Die

[7] Die Schmelzpunkte der Pikrate und Pikrolonate wurden im Vakuumröhrchen bestimmt.

Lösung wurde im Vak. eingedampft und der Rückstand von Bromlaburnanhydrobromid in wenig Wasser gelöst und mit vorhydriertem PtO_2 (0,20 g) nach Zusatz von 2 ml konz. Ammoniak bei 16° und 745 Torr hydriert. Die Wasserstoffaufnahme war nach 6 Stdn. beendet. Aufnahme: 43 ml, ber.: 46 ml H_2. Anschließend wurde das Reaktionsprodukt aus der wäßr. Lösung erschöpfend mit Äther extrahiert und bei 12 Torr im Kugelrohr bei 65 bis 70° Luftbadtemp. destilliert.

Drehung: $\alpha_D^{16} = +1{,}40°$ (absol. Äthylalkohol, $c = 8{,}0$, 1-dm-Rohr; $[\alpha]_D^{16} = +17{,}5°$.

Pikrat: Fällung aus äther. Lösung, mehrfach aus Äthanol umkristallisiert, Schmp. 234 bis 236° u. Zers.

Laburninsäure.

0,28 g Laburnin wurden wie früher beschrieben[1] mit CrO_3 in schwefelsaurer Lösung oxydiert. Der nach der üblichen Aufarbeitung durch Eindampfen der wäßr. Lösung erhaltene Rückstand wurde in Siedehitze mehrfach mit Äthanol digeriert. Beim Abdampfen der alkohol. Lösung im Vak. kristallisierte die Laburninsäure aus. Ausbeute: 0,3 g, beinahe quantitativ.

Zur weiteren Reinigung wurde die Rohsäure bei 0,02 Torr und 135 bis 140° Luftbadtemp. sublimiert. Durch Umkristallisieren aus Äthanol-Äther wurde die Laburninsäure in Form feiner nadelförmiger Kristalle erhalten. Sie ist hygroskopisch und nimmt beim Stehen an der Luft 1 Mol Wasser auf. Schmp. im offenen Röhrchen: 215 bis 216°.

$C_8H_{13}O_2N \cdot 1\,H_2O$. Ber. C 55,47, H 8,73. Gef. C 55,46, H 8,77.

Drehung: $\alpha_D^{21} = +1{,}78°$ (dest. Wasser, $c = 4{,}03$, 1-dm-Rohr); $[\alpha]_D^{21} = +44{,}2°$ (berechnet für wasserfreie Säure).

Pikrat: Eine äther. Lösung von Laburninsäure wurde mit äther. Pikrinsäurelösung versetzt und das Pikrat aus Methanol-Äther umkristallisiert. Laburninsäure-pikrat kristallisierte in Form feiner gelber Nadeln vom Schmp. 175 bis 176°.

Modellversuch mit Lupinin. Überführung von Lupinin in Lupinan über das Tosylat.

Lupinintosylat: 0,25 g Lupinin wurden in 2 ml absol. Pyridin gelöst und mit der Hälfte einer Lösung von 0,5 g Tosylchlorid in 3 ml absol. Pyridin versetzt und über Nacht bei 0° belassen. Nach Zusatz der 2. Hälfte wurde 48 Stdn. bei Zimmertemp. stehen gelassen und dann am Wasserbad bei 50° und 50 Torr unter Durchleiten eines trockenen Luftstromes von dem überschüssigen Pyridin befreit. Der rotbraune ölige Rückstand wurde in Wasser gelöst, mit 5 ml 2 n HCl angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Die wäßr. Lösung wurde sodaalkalisch gemacht und erschöpfend mit Äther ausgezogen, mit KOH getrocknet und am Wasserbad auf ein Volumen von 25 ml eingeengt.

Es sei an dieser Stelle bemerkt, daß sowohl beim Lupinin als auch beim Laburnin bei der Aufarbeitung der Tosylate weitgehend eine Umlagerung zu einem in Äther unlöslichen Stoff eintreten kann, wenn die beschriebenen Reaktionsbedingungen nicht genau eingehalten werden.

Reduktion des Tosylats mit $LiAlH_4$: Die oben erhaltene äther. Lösung des Tosylats wurde zunächst nochmals mit Na_2SO_4 getrocknet, in 50 ml absol. Äther aufgenommen, 0,21 g $LiAlH_4$ eingeworfen und 7 Stdn. unter

Rückfluß gekocht. Nach dem Zersetzen mit Wasser wurde stark alkalisch gemacht und erschöpfend mit Äther ausgezogen. Der Rückstand von 0,2 g wurde bei 12 Torr und 80 bis 85° Luftbadtemp. destilliert. Farblose, heuartig riechende Base.

Drehung: $\alpha_D^{18} = -0{,}38°$ (Methanol, $c = 8{,}66$, 0,5-dm-Rohr); $[\alpha]_D^{18} = -8{,}8°$. (Literaturangabe[8]: $[\alpha] = -9{,}4°$.)

Pikrat: Aus äther. Lösung mit Pikrinsäure gefällt, aus Äthanol umkristallisiert, gelbe Blättchen, Schmp. 185 bis 186°. (Lit.: 185°[8].)

Pikrolonat: In methanol. Lösung mit Pikrolonsäure gefällt, auf dem Wasserbad etwas eingeengt. Aus Methanol umkristallisiert, Schmp. 236 bis 237° u. Zers.

Die Analysen wurden von Herrn Dr. *G. Kainz* im Mikrolaboratorium des II. Chemischen Institutes ausgeführt.

---

[8] *P. Karrer* und *A. Vogt*, Helv. Chim. Acta **13**, 1073 (1930).

Zur Umsetzung von α-Brom-β-methoxy-buttersäureester mit Natriummalonester*.

2. Mitteilung.

Von

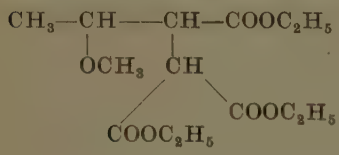
O. Brunner.

Aus dem Institut für Chemie der Hochschule für Bodenkultur in Wien.

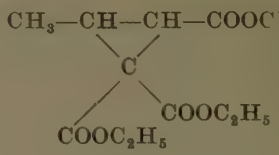
(Eingelangt am 13. Mai 1954.)

Der Einfluß des Reaktionsmediums auf den Verlauf der Reaktion wird geprüft und die Umsetzung des α-Brom-β-methoxy-buttersäure-methylesters mit einem substituierten Malonester näher untersucht.

In einer früheren Mitteilung[1] wurde berichtet, daß bei der Umsetzung des nach *H. E. Carter* und *L. F. Ney*[2] dargestellten *α-Brom-β-methoxy-buttersäureäthylesters* mit *Natriummalonsäurediäthylester* nicht der formelmäßig zu erwartende Triäthylester der *3-Methoxy-1,1,2-butantricarbonsäure* (I), sondern vielmehr unter Abspaltung des Methoxylrestes und gleichzeitigem Ringschluß der *3-Methyl-cyclopropan-1,1-dicarbonsäure-diäthyl-2-carbonsäuremethylester* (II) resultierte.



I



II

Das Auftreten der Methylestergruppe konnten wir hierbei durch eine Umesterung bei der Überführung des 2,3-Dibrombuttersäureäthylesters in den α-Brom-β-methoxy-buttersäureester, die in methylalkohol. Lösung mittels Natriummethylat erfolgte, erklären.

---

* Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* zum 60. Geburtstag gewidmet.

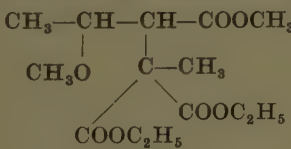
[1] *O. Brunner* und *P. Hanke*, Mh. Chem. **83**, 1485 (1952).

[2] *H. E. Carter* und *L. F. Ney*, J. Amer. Chem. Soc. **64**, 1223 (1942).

Wir haben nun diese Umsetzung einem weiteren Studium unterzogen und dabei, um die erwähnte Möglichkeit einer Umesterung auszuschließen, von vorneherein den *Methylester* der α-Brom-β-methoxy-buttersäure als Ausgangsmaterial gewählt, der in analoger Weise vom Crotonsäuremethylester ausgehend, durch Bromierung und Umsetzung des so gewonnenen 2,3-Dibrombuttersäuremethylesters mit Natriummethylat erhalten wurde.

Zunächst wurde der Einfluß des *Reaktionsmediums* untersucht und an Stelle des polaren Äthanols das unpolare Benzol verwendet. Auch in diesem Falle kam es zur Bildung des *3-Methyl-cyclopropan-1,1-dicarbonsäurediäthyl-2-carbonsäuremethylesters*, wenngleich in wesentlich schlechterer Ausbeute (46% d. Th. gegen 95% d. Th. in Äthanol). Eine Isolierung einheitlicher Fraktionen aus dem Vorlauf des Reaktionsproduktes gelang nicht.

Die Umsetzung des *α-Brom-β-methoxy-buttersäuremethylesters* mit *Natrium-methylmalonsäurediäthylester*, die in absolut-alkoholischer Lösung vorgenommen wurde, führte zu einem Ester, welcher unter 0,35 Torr vollkommen einheitlich bei 140° überging. Sein Äquivalentgewicht wurde zu 97 bestimmt, die Ergebnisse der Elementaranalyse wiesen auf die Formel $C_{14}H_{24}O_7$. Diese Ergebnisse stehen in Einklang und deuten für den erhaltenen Ester auf die Konstitution eines *4-Methoxy-pentan-2,2-dicarbonsäure-diäthyl-3-carbonsäuremethylesters* (III).



III

Schließlich wurde durch Umsetzung des 2,3-Dibrombuttersäureesters mit Natrium-isopropylat die Darstellung des *α-Brom-β-isopropoxy-buttersäuremethylesters* versucht, hiebei jedoch nur Bromcrotonsäuremethylester erhalten.

Experimenteller Teil.

2,3-Dibrombuttersäuremethylester.

185 g *Crotonsäuremethylester* wurden unter Rühren bei einer Temp. von — 10 bis 0° im Verlaufe von $1^1/_2$ Stdn. mit 296 g Brom versetzt. Nach weiterem einstündigem Stehen wurde im Vak. destilliert. $Sdp._8$: 85,5 bis 87°. Ausbeute 96% d. Th.

α-Brom-β-methoxy-buttersäuremethylester.

Zu 406 g *2,3-Dibrombuttersäuremethylester* wurde zwischen — 10 und — 5° eine Lösung von 45 g Natrium in 750 ml absol. Methanol unter kräftigem Rühren langsam zugetropft. Nach $1^1/_2$stünd. Stehen wurde in eine Mischung

von 75 ml konz. HCl und 1800 ml Wasser eingegossen, ausgeäthert, mit gesättigter $CaCl_2$-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. $Sdp._{10}$: 78°. Ausbeute 259 g, d. i. 75% d. Th.

$C_6H_{11}O_3Br$. Ber. Br 37,89. Gef. Br 37,16, 37,31.

Umsetzung mit Natriummalonester.

Zu 6 g Natrium in 300 ml Benzol wurden 40 g *Malonsäurediäthylester* zugegeben und nach beendeter Reaktion 50 g *α-Brom-β-methoxy-buttersäuremethylester* zugesetzt. Nach 2stünd. Kochen wurde ein Teil des Benzols abdestilliert, der Rest mit Wasser ausgeschüttelt, das Lösungsmittel im Vak. abdestilliert und der Rückstand im Vak. fraktioniert. Vorlauf $Sdp._{11}$: 84 bis 90°; Hauptfraktion (28 g) $Sdp._{11}$: 150 bis 151°, das ist 46% d. Th.

Die Verseifung der Hauptfraktion ergab den bei 151° schmelzenden *Monoäthylester* bzw. die bei 184 bis 185° schmelzende *Tricarbonsäure*, die auch bei der Umsetzung in absol.-alkohol. Lösung erhalten worden waren.

Umsetzung mit Methylmalonsäurediäthylester.

41,2 g *Methylmalonsäurediäthylester* wurden mit einer Lösung von 5,45 g Natrium in 150 ml absol. Äthylalkohol umgesetzt und 50 g *α-Brom-β-methoxy-buttersäuremethylester* zugegeben. Nach 1stünd. Erhitzen im Ölbad wurde in Wasser gegossen und wie üblich aufgearbeitet. Vorlauf $Sdp._{11}$: 79 bis 100°; Hauptfraktion $Sdp._{0,35}$: 140° (24 g).

Äquiv.-Gew.-Bestimmung (durch 10stünd. Verseifen mit 0,25 n alkohol. KOH): bei vollständiger Verseifung: $C_{14}H_{24}O_7$. Ber. 101,3. Gef. 97,2.

$C_{14}H_{24}O_7$. Ber. C 55,23, H 7,95. Gef. C 55,91, H 7,67.

Versuch zur Darstellung des α-Brom-β-isopropoxy-buttersäuremethylesters.

136 g *2,3-Dibrombuttersäuremethylester* wurden zwischen — 10 und 0° unter lebhaftem Rühren allmählich im Verlaufe von 2 Stdn. mit einer Kristallsuspension von *Natriumisopropylat* (aus 11,8 g Natrium in 460 ml Isopropylalkohol) versetzt. Nach weiterem 2stünd. Rühren wurde die Temp. auf 16° ansteigen gelassen, in verd. Salzsäure (1 : 10) eingegossen, die Esterphase wiederholt mit gesättigter $CaCl_2$-Lösung durchgeschüttelt. Nach Trocknen über $CaCl_2$ wurde im Vak. destilliert: Fraktion I $Sdp._8$: 58 bis 59° (48 g); Fraktion II $Sdp._8$: 59 bis 62° (11 g).

$C_8H_{15}O_3Br$. Ber. C 40,16, H 6,32, Br 33,43. Gef. C 33,05, H 3,95.

$C_5H_7O_2$ Br. Ber. C 33,52, H 3,94.

Über die Aufnahme von Blei und Wismut durch Glasoberflächen*.

Von

T. Schönfeld und S. Neumann.

Aus dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 1. Juli 1954.)

Versuche über die Adsorption von Radioblei an Glas zeigen, daß aus wäßrigen Lösungen aufgenommene Bleiionen in zwei verschiedenen Zuständen am Glas vorliegen — einem lockeren Adsorptions-Zustand, der auf Ionenaustauschadsorption beruht, und einer festen, vorwiegend homöopolaren Bindung an das Glasnetzwerk. Weitere Versuche gaben Aufschluss über den Mechanismus der Aufnahme in die beiden Zustände. Die Messung der Adsorption und Desorption von Radioblei ist zur Untersuchung von Glasoberflächen geeignet: So ist es — wie durch Versuche an Natronglas und Quarzglas gezeigt wird — möglich, charakteristische Unterschiede zwischen den Oberflächen verschiedener Gläser festzustellen. Weiters erhält man für Glasproben gleicher Zusammensetzung Einblick in die chemische und thermische Vorgeschichte der Oberflächen. Schließlich liefert die Ablösung von Radioblei von Gläsern unter gewissen Bedingungen Aussagen über den Angriff von Lösungen auf das Glas. Auch Wismut kann an Glasoberflächen sehr fest gebunden werden.

1. Einleitung.

Die Eignung radioaktiv markierter Stoffe für die Untersuchung von Grenzflächenvorgängen mit geringen Stoffumsätzen beruht vor allem auf der niedrigen Erfassungsgrenze, die durch Messung radioaktiver Strahlen erzielt werden kann. Zahlreiche Untersuchungen haben sich daher dieser Methode bedient[1]. Um den Mechanismus von Adsorptionsvor-

* Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* in Verehrung zum 60. Geburtstag gewidmet.

[1] Siehe *E. Broda* und *T. Schönfeld*, Radiochemische Methoden (Kapitel IV, Abschnitt 6) in Bd. II/1 des Handbuches der mikrochemischen Methoden. Wien. 1954.

gängen aufzuklären, ist es oft notwendig, die Adsorptionskinetik zu untersuchen. Hierbei kann man sich zusätzlich eine andere Eigenschaft der radioaktiven Stoffe zunutze machen, nämlich die Unterscheidbarkeit markierter von nichtmarkierten Atomen. Dadurch kann z. B. die Austauschgeschwindigkeit von Stoffen zwischen zwei miteinander im Gleichgewicht befindlichen Phasen gemessen werden.

Nachdem schon frühere Versuche[2] darauf hingewiesen hatten, daß die Adsorption von Bleiionen aus wäßrigen Lösungen an Glas besonders fest ist, haben wir nun die Aufnahme von Blei und Wismut näher untersucht. Dadurch haben wir Aufschluß über den Mechanismus der Aufnahme, darüber hinaus aber auch Einblick in verschiedene Vorgänge an Glasoberflächen erhalten.

2. Arbeitsmethoden.

A. Glaswolle: Die meisten Versuche wurden mit weichem Natronglas (Merck p. A. Glaswolle) durchgeführt. Aus Messungen mit Okularmikrometer ergab sich unter Annahme einer Dichte von 2,4 eine Oberfläche von etwa 740 cm^2/g.

Da sich Glasoberflächen bei der Lagerung oft beträchtlich verändern, wurden für die Versuche durch chemische Behandlung reproduzierbare Glasoberflächen hergestellt. Hierzu wurde die Glaswolle mehrere Stunden mit siedender Salpetersäure behandelt und dann mit destilliertem Wasser bis zur Neutralität gewaschen. Man darf annehmen, daß durch eine solche Behandlung alle leicht desorbierbaren Ionen, also vor allem Natriumionen, durch Wasserstoffionen ersetzt werden und an der Glasoberfläche eine verhältnismäßig dicke Gelschicht gebildet wird[3–6]. Diese Behandlung hat auch den Vorteil, daß sie eine Glaswolle liefert, bei deren Suspension in den meisten neutralen oder sauren wäßrigen Lösungen keine merkliche Abgabe von Stoffen an die Lösung erfolgt. Die auf diesem Weg erhaltene Glaswolle wird im folgenden als „*Säure-Glaswolle*" bezeichnet. Durch Erhitzen der Säure-Glaswolle im trockenen Zustand erhält man „*Säure-Hitze-Glaswolle*".

Für die Versuche an Quarzglas wurde eine Quarzwolle der Fa. Heräus benützt. Unter Annahme einer Dichte von 2,2 wurde für diese Wolle eine Oberfläche von etwa 2000 cm^2/g gefunden.

B. Die verwendeten Radioelemente und ihre Messung: Sowohl die der Thorium-Zerfallsreihe angehörenden Radioelemente Thorium B (Blei 212) und Thorium C (Wismut 212), als auch die der Uran-Radiumreihe angehörenden Radioelemente Radium D (Blei 210) und Radium E (Wismut 210) wurden herangezogen. Thorium B und Thorium C wurden nach einer Emaniermethode aus konzentrierten Thoriumnitratlösungen praktisch trägerfrei gewonnen[7]. Radium D und Radium E wurden aus dem aktiven Rückstand

---

[2] *T. Schönfeld* und *E. Broda*, Mikrochem. **36/37**, 537 (1951).
[3] *E. Berger*, Glastechn. Ber. **12**, 189 (1934).
[4] *A. Vasicek*, Glastechn. Ber. **16**, 83 (1938).
[5] *A. Vasicek*, Kolloid-Z. **11**, 86 (1939).
[6] *W. Geffcken*, Glastechn. Ber. **24**, 143 (1951).
[7] *E. Broda, H. Fabitschowitz* und *T. Schönfeld*, Mh. Chem. **83**, 462 (1952).

von Emanationsbirnen durch chemische Aufarbeitung mit einer kleinen Menge Bleiträger erhalten, so daß also Radium D in geringer spezifischer Aktivität vorlag.

Die Aktivitätsmessungen wurden mit einem *Geiger*-Glockenzähler ausgeführt, der ein relativ dickes Glimmerfenster besitzt. Beim Arbeiten mit den angeführten Radioelementen registriert dieses Zählrohr praktisch nur die von den Wismutisotopen Thorium C und Radium E und vom Folgeprodukt des Thorium C, Thorium C″, emittierten β-Strahlen, jedoch nicht die sehr weichen β-Strahlen der Bleiisotope Thorium B und Radium D. Aus dem zeitlichen Verlauf der mit dem Zählrohr gemessenen Aktivitäten kann man daher berechnen, wie weit die Probe vom radioaktiven Gleichgewicht entfernt ist, und daher auch, was das Verhältnis von Radioblei zu Radiowismut in einer Phase zum Zeitpunkt der Phasentrennung war. Nach Einstellung des radioaktiven Gleichgewichtes, die für Thorium B — Thorium C praktisch nach etwa 5 Stdn., für Radium D — Radium E nach etwa 4 Wochen erfolgt, ist die gemessene Aktivität nur mehr ein Maß für die Menge der Radioisotope des Bleis.

C. Bestimmung der Adsorption und Desorption der Radioelemente: Um einen Adsorptions- oder Desorptionswert zu erhalten, müssen grundsätzlich mindestens zwei der folgenden drei Größen bestimmt werden: Gesamtmenge an Radioelement im System, Menge des Radioelements adsorbiert, Menge des Radioelements in Lösung. Zur Bestimmung der Adsorption wurde zumeist der einfachste Weg beschritten — nämlich die Bestimmung der Menge des Radioelements in Lösung vor und nach dem zu untersuchenden Vorgang. Die Messung der Aktivität erfolgt hierbei an stets gleich großen Bleichromatniederschlägen, die durch Fällung aus bekannten Volumina der Lösungen nach Pufferung mit Ammonacetat gewonnen wurden. Wie sich zeigte, wird bei derartigen Fällungen das vorhandene Wismut quantitativ mitgerissen. Die zum Zeitpunkt der Phasentrennung an der Glaswolle befindliche Menge Radioelement ergibt sich dann aus der Differenz der Aktivitäten der Lösung vor und nach Adsorption. Wo diese Methode jedoch zu großen Fehlern Anlaß gegeben hätte[8], wurde die am Adsorbens befindliche Menge der Radioelemente bestimmt, indem diese durch konzentrierte heiße Lauge quantitativ von der Glaswolle abgelöst wurden und nach Neutralisierung und Trägerzusatz als Chromat gefällt wurden. Zur Bestimmung der Desorption wurde die an die Lösung abgegebene Menge des Radioelements direkt bestimmt; als zweite Größe diente entweder die aus den Adsorptionswerten berechnete Gesamtmenge im System oder der durch Ablösen von der Glaswolle bestimmte nichtdesorbierte Anteil. Direkte Messungen der Aktivität an Glaswolle sind schlecht reproduzierbar und wurden nur in einzelnen Fällen zur qualitativen Orientierung herangezogen.

Um das Auftreten von Konzentrationsunterschieden in einer Lösung bei Adsorption oder Desorption zu verhindern, wurde bei allen Versuchen geschüttelt.

Alle hier berichteten Ergebnisse beruhen auf mindestens zwei Parallelversuchen. Um die Genauigkeit der Versuchsergebnisse festzustellen, wurde eine eingehende Untersuchung der Meßfehler vorgenommen[8].

---

[8] *S. Neumann*, Dissertation Universität Wien (1954).

3. „Feste Bindung" oder „Eindiffusion" von Bleiionen an Glasoberflächen.

Das bereits früher[2] beobachtete Adsorptionsverhalten von Radiobleı an Glas kann grundsätzlich durch eine von zwei Annahmen gedeutet werden: 1. Die Bleiionen können an der Oberfläche sehr fest gebunden werden und tauschen daher mit Bleiionen der Lösung nur sehr langsam aus; 2. die Bleiionen diffundieren nach Aufnahme ins Glasinnere ein, wodurch die Wahrscheinlichkeit ihrer unmittelbaren Desorption bedeutend verringert wird.

Schon allgemeine Überlegungen zeigen, daß die erste Annahme richtig sein dürfte. Eine rasche Eindiffusion von Blei ins Glas ist auf Grund der Beobachtungen der Ionenleitung in Gläsern unwahrscheinlich. Während nämlich Natriumionen aus einem Amalgam oder einer Salzschmelze durch Natronglasschichten zur Kathode (bestehend z. B. aus Quecksilber) wandern, konnte für mehrwertige Ionen noch nie merkliche Einwanderung in Gläser festgestellt werden[9, 10]. Anderseits läßt die Existenz stabiler Bleigläser mit größeren Bleigehalten als dem Bleiorthosilikat entspricht[11], also von Gläsern, in denen Blei eindeutig als Netzwerkbildner auftritt, feste Bindung von Blei an Glas immerhin möglich erscheinen.

Eine eindeutige Unterscheidung zwischen „fester Bindung" und „Eindiffusion" ist durch einen Desorptionsversuch möglich: Glaswolle, an der Radioblei adsorbiert wurde, wird sofort nach Ende der Adsorption in inaktiver Bleinitratlösung suspendiert. Läßt man die Glaswolle für ein Vielfaches der Dauer der Adsorption in der Desorptionslösung suspendiert, so müßte bei Vorliegen eines Diffusionsmechanismus praktisch das gesamte Radioblei wieder desorbiert werden. Ein mit Radium D durchgeführter Versuch, bei dem die Desorption in 10^{-3} m Bleinitratlösung auf mehr als 4 Monate (das 200fache der Adsorptionszeit) ausgedehnt wurde, ergab jedoch, daß nach Ende der Desorption noch mehr als ein Zehntel des ursprünglich adsorbierten Radiobleis von der Glaswolle festgehalten wurde. Auch einige weiter unten zu besprechende Versuchsergebnisse bestätigen, daß Diffusion keine Rolle spielt und daher feste Bindung von Blei an Glas auftritt.

Daß zwei Bindungszustände vorliegen, erkennt man auch aus dem Verlauf der Desorption bei kürzeren Desorptionszeiten (Tabelle 1). Ein Teil des aufgenommenen Radiobleis wird sehr rasch desorbiert, der andere Teil nur sehr langsam.

---

[9] *C. A. Kraus* und *E. H. Derby*, J. Amer. Chem. Soc. **44**, 2783 (1922).
[10] *G. W. Morey*, Properties of Glass. New York. 1938.
[11] *K. Fajans* und *N. Kreidl*, J. Amer. Ceram. Soc. **31**, 105 (1948).

Der große Unterschied zwischen den beiden Zuständen des aufgenommenen Bleis wird noch deutlicher, wenn man die Geschwindigkeit der Desorption berechnet. Da für jeden einheitlichen Bindungszustand eine exponentielle Abnahme der in ihm befindlichen Menge mit der Zeit zu erwarten ist, kann man die Desorptionsgeschwindigkeiten durch „Halbwertszeiten" ausdrücken. Für den lockeren Zustand wurde die Halbwertszeit aus den ersten drei Werten von Tabelle 1 berechnet, deren relative Lage mit einer exponentiellen Abnahme der adsorbierten Menge gut übereinstimmt; sie beträgt etwa 10 Min. Die Halbwertszeit der Desorption aus dem festen Bindungszustand kann man in folgender Weise abschätzen: Nach Adsorption von langlebigem Radioblei an Glaswolle wurde zuerst durch 6 Wochen gegen inaktives Bleinitrat desorbiert. Dann wurde die in den folgenden 12 Wochen an inaktive Bleinitratlösung abgegebene Menge Radioblei bestimmt. Diese betrug 12,5% der zu Beginn dieser Zeitspanne am Adsorbens vorliegenden Menge. Nimmt man an, daß die Desorption aus dem festen Bindungszustand einem einfachen Exponentialgesetz gehorcht, so errechnet sich daraus eine Halbwertszeit von zwei Jahren. Das Verhältnis der beiden Halbwertszeiten beträgt also mehrere Größenordnungen.

Tabelle 1. Verlauf der Desorption von Radioblei von Glaswolle. (Versuchsbedingungen: Säure-Hitze-Glaswolle, Desorption in 0,001 m Bleinitratlösung.)

Dauer der Desorption (Stunden)	Desorption in % des adsorbierten Radiobleis
0,1	20
0,25	34
1,0	53
4,0	60
27,0	63

4. Bindungszustände von Blei an Glasoberflächen und Mechanismus der Aufnahme.

Um das Verständnis der folgenden Abschnitte zu erleichtern, soll schon an dieser Stelle — zunächst ohne Beweisführung — jenes Bild vom Wesen der beiden Bindungszustände und vom Mechanismus der Aufnahme gegeben werden, das sich aus dem gesamten Versuchsmaterial ergibt. Die Besprechung der einzelnen Versuchsergebnisse wird dann zeigen, wie diese zu dem Bild führen.

Die Glasoberfläche, das heißt die durch Na^+—H^+-Austausch entstandene Quellschicht, kann als Kationenaustauscher betrachtet werden, an dessen SiO^--Endgruppen Adsorption der Bleiionen in den lockeren Bindungszustand durch elektrostatische Anziehung erfolgt. Dieser Charakter der lockeren Adsorption geht aus Desorptionsversuchen (Tabelle 2) anschaulich hervor. Man erkennt, daß verschiedene saure oder neutrale Lösungen mit einer gewissen Ionenkonzentration den gleichen Anteil des Radiobleis — offensichtlich also alle locker adsorbierten

Ionen — verdrängen, während die Desorption mit destilliertem Wasser wesentlich geringer ist. Hier gelten also offenbar die gleichen Gesetzmäßigkeiten, die schon bei der Adsorption durch die Beobachtung der Wirkung von Salzzusätzen festgestellt wurden[2].

Tabelle 2. Desorption von Radioblei gegen verschiedene Lösungen. Versuchsbedingungen: Säure-Glaswolle, Desorptionsdauer 4 Stdn.

Desorptionslösung	Desorption in % des adsorbierten Radiobleis
10^{-3} m $Pb(NO_3)_2$	56
4 n HNO_3	52
0,04 n HNO_3	57
Destilliertes Wasser ...	12

In der Quellschicht sind die meisten Endgruppen auch noch nach der Adsorption von Radioblei aus hochverdünnten Lösungen mit kovalent gebundenen Wasserstoffionen besetzt. Dadurch ist die Konzentration freier Anionenendgruppen in der Quellschicht sehr gering und die Anwendung der *Donnan*-Membran-Vorstellungen[12] führt zu dem Ergebnis, daß die Konzentration aus der Lösung aufgenommener beweglicher Anionen in der Gelschicht nur wenig geringer als die Konzentration dieser Anionen in der Lösung ist. Aus diesem Grund dürften die locker adsorbierten Radiobleiionen jeweils nur einer SiO^--Endgruppe zugeordnet sein, die eine ihrer beiden Ladungen absättigt, während die zweite Ladung durch ein leicht bewegliches Anion neutralisiert sein dürfte. Befindet sich nun in entsprechender räumlicher Lage zu der das Bleiion festhaltenden SiO^--Endgruppe eine SiOH-Endgruppe, so kann das Bleiion mit beiden Endgruppen in Wechselwirkung treten und dadurch vom lockeren in den festen Bindungszustand übergehen. Hierbei wird das Wasserstoffion der SiOH-Endgruppe freigesetzt. Der große Unterschied in der Desorptionsgeschwindigkeit aus den beiden Bindungszuständen weist darauf hin, daß die feste Bindung nicht einfach durch die Summierung der elektrostatischen Wechselwirkungen mit zwei Anionenendgruppen zustande kommt, sondern daß sie qualitativ verschieden, das heißt weitgehend homöopolar ist.

Das Zustandekommen der festen Bindung kann auf Grund der Vorstellungen von *Weyl*[12a] mit der großen Polarisierbarkeit des Bleiions in Beziehung gebracht werden. Nähert sich das zweiwertige Bleiion negativ geladenen Sauerstoffionen, wie sie in den SiO^--Endgruppen der Glasoberfläche vorhanden sind, so werden seine zwei Hüllenelektronen abgestoßen und es entsteht eine Elektronenverteilung, die auf der den

[12] Siehe z. B. *W. C. Baumann* und *J. Eichhorn*, J. Amer. Chem. Soc. **69**, 2830 (1947).

[12a] *W. A. Weyl*, Trans. Soc. Glass Technol. **32**, 247 (1948).

Sauerstoffionen zugewandten Seite dem vierwertigen Bleiion, auf der abgewandten Seite einem ungeladenen Bleiatom entspricht. Beim vierwertigen Blei kommen die charakteristischen Eigenschaften der vierten Gruppe des periodischen Systems, zu denen auch die Neigung zur Ausbildung homöopolarer Bindungen gehört, deutlich zum Ausdruck. Offensichtlich besteht diese Neigung nicht nur für das vierwertige Bleiion, sondern auch für die „vierwertige Seite eines disproportionierten zweiwertigen Bleiions".

Während man annehmen darf, daß die Bindungsstärke der lockeren Adsorption an allen Adsorptionsstellen annähernd die gleiche ist, ist die Stärke des festen Bindungszustandes wohl nicht scharf definiert, sondern dürfte eine breite Verteilung aufweisen. Verantwortlich hierfür ist in erster Linie die Tatsache, daß die gegenseitige Lage der beiden beteiligten SiO^--Endgruppen von Bindungsstelle zu Bindungsstelle variiert. Aber auch die übrige Umgebung beeinflußt die Bindungsfestigkeit des homöopolar gebundenen Bleiions. So dürften verschiedene Koordinationszahlen für Blei möglich sein, wodurch es zu unterschiedlichen Feldwirkungen auf das Bleiion, damit zu einer Änderung der Polarisierbarkeit des Bleis durch die SiO^--Endgruppen und durch diese zu einer Änderung der Bindungsfestigkeit kommt.

5. Die Geschwindigkeit der Aufnahme von Radioblei in die beiden Bindungszustände.

Die Geschwindigkeit von Ionenaustauschadsorption aus gerührten Lösungen kann grundsätzlich durch die Geschwindigkeit eines oder mehrerer von drei Vorgängen bestimmt werden, nämlich durch die Geschwindigkeit der Diffusion durch die am Austauscher anhaftende Grenzschicht, die Geschwindigkeit der Diffusion im Austauscher selbst und die Geschwindigkeit der eigentlichen chemischen Reaktion des Austauschvorganges[13]. Während für Austauscher mit stark sauren Endgruppen gefunden wurde, daß die Diffusionsvorgänge geschwindigkeitsbestimmend sind, kann bei Austauschern, die gewisse Ionen nicht nur elektrostatisch, sondern auch homöopolar oder komplex binden, die chemische Reaktion des Austausches geschwindigkeitsbestimmend sein. Bei solchen Austauschern wird die Aufnahmegeschwindigkeit merklich davon abhängen, ob an den Anionenendgruppen bei Beginn der Adsorption ionogen oder homöopolar gebundene „Ionen" vorhanden sind. Für die Adsorption von Radioblei an Glasoberflächen wird man daher unterschiedliche Geschwindigkeiten der Aufnahme in den lockeren Adsorptionszustand zu erwarten haben, je nachdem, ob es sich um ein säurebehandeltes

[13] *G. E. Boyd, A. W. Adamson* und *L. S. Myers*, J. Amer. Chem. Soc. **69**, 2836 (1947).

Glas handelt oder um ein Glas, bei dem die Wasserstoffionen der Oberfläche durch nicht homöopolar gebundene Ionen ersetzt wurden.

Man erkennt aber auch, daß der Übergang vom lockeren in den festen Bindungszustand dann rasch verlaufen wird, wenn an den der Stelle primärer Adsorption benachbarten Endgruppen locker adsorbierte Ionen sitzen. Die Übergangsgeschwindigkeit vom lockeren in den festen Bindungszustand wird natürlich auch von den sterischen Verhältnissen an den einzelnen Adsorptionsstellen wesentlich beeinflußt.

Tabelle 3. Verlauf der Adsorption von Radioblei an Glas.
A. Adsorption an Säure-Glaswolle. B. Adsorption an Säure-Hitze-Glaswolle (20 Stdn. auf 200° C erhitzt).
Versuchsbedingungen: Volumen der Radiobleilösung 120 ml, Gewicht der Glaswolleproben 1,15 g.

Dauer der Adsorption (Stdn.)	Adsorption in % der gesamten Radiobleimenge	
	A	B
1	33	54
2	45	60
20	89	79
45	93	82

Der zeitliche Verlauf der Aufnahme an Säure- und Säure-Hitze-Glaswolle bestätigt diese Annahmen (siehe Tabelle 3). Man erkennt, daß die Adsorption an Säure-Hitze-Glaswolle zunächst rascher verläuft. Nach etwa 15 Stdn. erreicht aber die Adsorption an Säure-Glaswolle gleich große Werte und überschreitet die Adsorption an Säure-Hitze-Glaswolle bei noch längeren Adsorptionszeiten.

Folgende Erklärung liegt für diesen Verlauf nahe: Beim Erhitzen der Säure-Glaswolle dürften die an den Endgruppen der Quellschicht sitzenden H^+-Ionen zu einem gewissen Teil durch Na^+-Ionen ersetzt werden, die aus dem Glasinneren herausdiffundieren. Ursache dieser Wanderung ist in erster Linie das starke Konzentrationsgefälle der Natriumionen zwischen Glasinnerem und Glasoberfläche. Hierzu kommt aber noch die bei höheren Temperaturen auftretende zusätzliche Anreicherung von Natriumionen an der Oberfläche, die auf der oberflächenspannungserniedrigenden Wirkung dieser Ionen beruht[14, 15]. Auf Grund der Umwandlung von SiOH- in SiONa-Endgruppen ist aber eine merkliche Beschleunigung der Adsorption und des Überganges in den festen Bindungszustand zu erwarten.

Die höheren Adsorptionswerte für Säure-Glaswolle nach längeren Adsorptionszeiten lassen sich durch die Annahme deuten, daß die Erhitzung zu einer Verringerung der Anzahl der für die Adsorption verfügbaren Endgruppen an der Glasoberfläche führt. Als Ursache hierfür kommen einerseits Wasserabspaltung unter Ausbildung neuer Si—O—Si-Brücken, anderseits sterische Effekte in Frage, die gewisse Gruppen für Bleiionen unzugänglich machen.

[14] *W. Rosenhain*, J. Soc. Glass Technol. **11**, 77 (1927).
[15] *W. A. Weyl* und *H. S. Williams*, Glass Ind. **26**, 275 (1945).

Über die Aufnahme in den festen Bindungszustand, die schon bei den eben diskutierten Adsorptionsversuchen eine Rolle spielte, geben auch Versuchsreihen Auskunft, bei denen Adsorptions- und Desorptionsbedingungen innerhalb einer Versuchsreihe konstant gehalten, die Glaswolleproben jedoch zwischen Adsorptionsende und Desorptionsbeginn verschieden lang und unter verschiedenen Bedingungen gelagert wurden (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4. Lagerungsversuche.

Versuchsreihe	Vorbehandlung der eingesetzten Säure-Glaswolle	Dauer der Adsorption (Stdn.)	Lagerung zwischen Adsorptionsende und Desorptionsbeginn			% Radioblei desorbiert[16]
			Dauer (Stdn.)	Temperatur (° C)	Zustand bei Beginn der Lagerung an Luft	
1	Keine	3	2	23	trocken	60
			3	23	„	58
			10	23	„	52
			22,5	23	„	38
2	Keine	0,05	—	—	—	61
			10	23	trocken	44
			10	23	feucht	21
3	20 Stdn. auf 200° C erhitzt	2	—	—	—	44
			1	23	trocken	44
			15	23	„	39
			36	23	„	43
4	20 Stdn. auf 200° C erhitzt	2	—	—	—	42
			1	200	trocken	32
			6	200	„	27
			26	200	„	29
5	2,5 Stdn. auf 200° C erhitzt	0,03	—	—	—	38
			18,5	23	trocken	34
			18,5	200	„	23
			18,5	200	feucht	9

Bevor auf die Folgerungen bezüglich des Überganges in den festen Bindungszustand eingegangen wird, die diese Versuche gestatten, soll darauf hingewiesen werden, daß sie die Annahme einer festen Bindung von Radioblei an Glasoberflächen eindeutig bestätigen. Tritt schon bei Lagerung von Säure-Hitze-Glaswolle bei Zimmertemperatur kein Absinken der Desorptionswerte mit der Dauer der Lagerung auf (Versuchsreihe 3), so zeigt Versuchsreihe 4, daß selbst Lagerung bei erhöhter Temperatur nur ein anfängliches, aber mit der Lagerungsdauer nicht weiter fortschreitendes Absinken der Desorptionswerte bewirkt, so daß Eindiffusion von Bleiionen ins Glas nicht einmal als Nebeneffekt vorliegen kann. (Bei Vorliegen eines Diffusionseffektes würde die Temperaturerhöhung diesen bedeutend ver-

[16] Desorption gegen 10^{-3} m Bleinitratlösung; Dauer 3 Stdn.

größern; nimmt man an, daß die Aktivierungsenergie der Diffusion den für Festkörperdiffusionsvorgänge typischen Wert von 20 kcal/Mol besitzt, so würde die Temperaturerhöhung von 25° auf 200° C eine Vergrößerung der Diffusionsgeschwindigkeit etwa um den Faktor 10^5 bewirken.)

Von den in Tabelle 3 wiedergegebenen Versuchsergebnissen soll zuerst das unterschiedliche Verhalten von Säure-Glaswolle (Versuchsreihe 1) und Säure-Hitze-Glaswolle (Versuchsreihe 3) besprochen werden. Während die Desorption von Säure-Glaswolle nach trockener Lagerung bei Zimmertemperatur mit der Lagerungsdauer deutlich abnimmt, sind die Desorptionswerte bei Ausführung des gleichen Versuches an Säure-Hitze-Glaswolle nach kurzer Lagerung bedeutend geringer als für Säure-Glaswolle, nehmen aber mit zunehmender Lagerungszeit nicht weiter ab. Dieser Unterschied dürfte — ebenso wie die Unterschiede in der zeitlichen Abhängigkeit der Gesamtadsorption — darauf zurückzuführen sein, daß beim Erhitzen der Säure-Glaswolle SiOH- in SiONa-Endgruppen umgewandelt, also Endgruppen mit locker adsorbierten Ionen zur Verfügung gestellt werden.

Die Versuchsreihen 4 und 5 zeigen, daß der Übergang in den festen Bindungszustand durch Erhöhung der Lagerungstemperatur stark beschleunigt wird. Da die Lagerungsversuche bei Zimmertemperatur nicht zu sehr langen Lagerungszeiten ausgedehnt wurden, kann noch nicht festgestellt werden, ob es sich bei der Abnahme der Desorption in den Versuchsreihen 4 und 5 nur um einen kinetischen Effekt handelt oder ob auch die Gleichgewichtswerte bei sehr langer „heißer" und „kalter" Lagerung verschieden sind. Da die Erhitzung der Glaswolle durch Dehydratisierung eine starke Schrumpfung der Gelschicht bewirkt, wäre es denkbar, daß beim Erhitzen auch Umlagerungen an der Glasoberfläche auftreten, die den bereits adsorbierten Bleiionen Übergang in den festen Bindungszustand auch an solchen Stellen ermöglichen, an denen er ohne Erhitzung überhaupt nicht auftreten kann. Beim Erhitzen feuchter Glaswolle treten noch zusätzliche Oberflächenvorgänge auf — z. B. Angriff durch wäßrige und feste Lauge —, die sehr komplex sind. Aussagen über die relative Rolle der einzelnen Teilvorgänge sind daher nicht möglich.

Versuchsreihe 2 zeigt, daß die Desorption bedeutend verringert wird, wenn man die Glaswolle nicht trocken, sondern in Berührung mit im Gleichgewicht befindlicher hochverdünnter Lösung lagert. Dadurch wird bestätigt, daß die Wahrscheinlichkeit des Überganges in den festen Bindungszustand nicht an allen Stellen primärer Adsorption gleich groß ist. Durch die Anwesenheit der Flüssigkeitsschicht wird nämlich eine wiederholte Adsorption und Desorption individueller Bleiionen ermöglicht. Wenn die Übergangswahrscheinlichkeit an allen Stellen primärer Adsorption eines Adsorbens gleich groß ist, dann bleibt ein solcher Vorgang

ohne Einfluß auf den zu irgendeiner Zeit festgebundenen Anteil der Ionen; wenn jedoch die Übergangswahrscheinlichkeiten variieren, dann führt er bei längeren Lagerungszeiten zu einer Vergrößerung des festgebundenen Anteils.

6. Aufnahme von Wismut durch Glas.

Wismut wird — zumindest unter gewissen Bedingungen — an Glas stärker adsorbiert als Blei. Bringt man Glas- oder Quarzwolle für einige Minuten in eine hochverdünnte Thorium B-Thorium C-Lösung, erzeugt nach Trennung von Adsorbens und Lösung in dieser einen Bleichromatniederschlag und beginnt sofort mit der Aktivitätsmessung an Glaswolle und Niederschlag, so zeigt die Gegenüberstellung des Aktivitätsverlaufes an den beiden Proben (Abb. 1), daß die Glaswolle ein größeres Verhältnis Thorium C-Thorium B als die Lösung aufweist, daß also Wismut bevorzugt adsorbiert wurde.

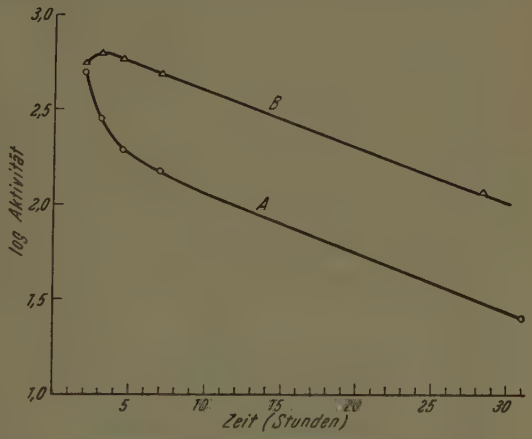


Abb. 1. Abklingkurven der Radioelemente (ThB—ThC) nach Adsorption an Quarzglaswolle.
A: Aktivität der Quarzglaswolle.
B: Aktivität des aus der Lösung gewonnenen Bleichromatniederschlages.

Radiowismut wird sogar aus 10^{-3} m Bleinitratlösung adsorbiert. Wird nämlich bei dem oben besprochenen Versuch über die Desorption von Radium D der zeitliche Verlauf der Aktivität des aus der Lösung gewonnenen Bleichromatniederschlages verfolgt, so findet man, daß die Aktivität mit der Halbwertszeit des Radium E (5 Tage) von Null ansteigt. Da Wismut bei den Fällungen quantitativ mitgerissen wird, kann man schließen, daß die Desorptionslösung zum Zeitpunkt der Fällung Radioblei (Radium D), aber kein Radiowismut (Radium E) enthielt. Das aus dem desorbierten Radium D durch Zerfall gebildete Radium E st offenbar zur Gänze von der Glasoberfläche aufgenommen worden. Unter einigen vereinfachenden Annahmen kann man zeigen, daß dieser Adsorptionsvorgang mit einer Halbwertszeit von weniger als einer halben Stunde abgelaufen sein muß[8].

Eine eingehendere Untersuchung des Bindungszustandes von Wismut an Glas wurde nicht durchgeführt. Doch dürfte auch beim Wismut ein

homöopolarer Bindungszustand auftreten. Für eine solche feste Bindung des Wismuts an die SiO^--Endgruppen des Glasnetzwerkes sprechen die hohe Polarisierbarkeit des Wismutions, seine dreifache Ladung und seine im Verhältnis zum Bleiion geringe Größe. Auch die Existenz von Gläsern mit hohen Wismutgehalten[11] zeigt, daß Wismut zumindest teilweise als Netzwerkbildner auftritt. Bei den Versuchen mit Radioblei und -wismut werden vor allem wohl jene Wismutionen auf diese Weise fest gebunden, die in der Glasoberfläche durch radioaktiven Zerfall von Radioblei-atomen gebildet werden.

Allerdings scheint die Ausbildung eines festen Bindungszustandes des Wismuts auch über einen anderen Weg als den möglich zu sein, der für die Bleiaufnahme angenommen wurde. Bei der Adsorption von Radium E aus der 10^{-3} m Bleinitratlösung ist nämlich die Bleikonzentration um viele Größenordnungen höher als die Wismutkonzentration, so daß eine Aufnahme des Wismuts durch Ionenaustausch kaum möglich erscheint. Überdies ist es fraglich, ob das Wismut, das sehr stark zur Kolloidbildung neigt und bei dessen Radioisotopen auch die Bildung von Radiokolloiden wiederholt beobachtet wurde[17], in diesen Lösungen überhaupt als Ion vorliegt. Vielleicht erfolgt also die Aufnahme von Radiowismut durch Glasoberflächen über die Aufnahme von Radiokolloidteilchen.

7. Anwendungsmöglichkeiten der Adsorption und Desorption von Radioblei und -wismut an Glas.

A. Vergleich von verschieden vorbehandelten Glasproben.

Das Adsorptionsverhalten der Glaswolle wird durch thermische Behandlung beträchtlich verändert. So wird durch Erhitzen sowohl die Geschwindigkeit der Adsorption wie auch der bei längeren Adsorptionszeiten auftretende Wert verändert (siehe Tabelle 3). Weitere Versuche[8] zeigten, daß diese Änderungen des Adsorptionsverhaltens von der Temperatur und Dauer der Hitzevorbehandlung abhängen. Bei den Lagerungsversuchen wurde eine Beeinflussung der Desorptionswerte durch vorheriges Erhitzen der Glaswolle festgestellt. Auch chemische Vorbehandlung ist wirksam. Eine Erhöhung der Adsorption wurde durch mehrstündige Vorbehandlung von Säure-Glaswolle mit 1 n Natronlauge und auch durch wiederholte scharfe Trocknung feuchter Glaswolle hervorgerufen, während Säurebehandlung von Säure-Hitze-Glaswolle die Adsorption verringerte[8].

Es folgt, daß die Messung der Radioadsorption und -desorption zur Feststellung von Veränderungen an Glasoberflächen dienen kann.

---

[17] *M. Haissinsky*, Les radiocolloides. Paris. 1934.

Beispielsweise könnte man auf diesem Wege in empfindlicher Weise feststellen, ob zwei aus dem gleichen Glas stammende Proben den gleichen thermischen und chemischen Verhältnissen ausgesetzt worden sind.

B. Vergleich von Oberflächen verschieden zusammengesetzter Gläser.

Um erste Anhaltspunkte für einen Vergleich zwischen verschieden zusammengesetzten Gläsern zu erhalten, wird man die Einflüsse der thermischen und chemischen Vorgeschichte auszuschalten trachten. So kann man z. B. die zu vergleichenden Gläser durch Kochen mit Säure in „Säure-Gläser" überführen; auch Ablösung der Quellschicht durch Lauge oder Lauge-Säure-Behandlung kann von Nutzen sein.

Als Beispiel sei hier über vergleichende Versuche an säurebehandeltem Natronglas und Quarzglas berichtet. Die Adsorptionswerte (Tabelle 5) zeigen, daß am Quarzglas bedeutend weniger Radioblei pro Quadratzentimeter Oberfläche adsorbiert wurde als an Natronglas. Da man wohl annehmen muß, daß beide Gläser SiOH-Endgruppen aufweisen, für die primäre Adsorption also zumindest sehr ähnliche Verhältnisse bestehen, kann dieser Befund grundsätzlich durch eine der folgenden Annahmen gedeutet werden: 1. Die Oberflächenschicht des Quarzglases ist bedeutend dünner als die des Natronglases, doch ist in beiden Schichten die Konzentration der Adsorptionszentren gleich groß; 2. beide Oberflächenschichten sind gleich dick, doch ist die Konzentration der Adsorptionszentren in der Quarzoberfläche geringer; 3. sowohl die Dicke der Oberflächenschicht als auch die Konzentration der Adsorptionszentren sind verschieden.

Nun zeigten Desorptionsversuche (Tabelle 5), daß an Quarz- und Natronglasoberflächen der gleiche Anteil des aufgenommenen Radiobleis fest gebunden wird. Daraus folgt, daß Übergang in den festen Bindungszustand in beiden Fällen beinahe gleich wahrscheinlich ist. Da aber eine Veränderung der Konzentration die Lage der Endgruppen zueinander und damit die Übergangswahrscheinlichkeit verändern würde, muß die Konzentration der Endgruppen in beiden Oberflächen ungefähr gleich groß sein. Die Quellschicht am Quarzglas ist also dünner als die am Natronglas, beide haben aber einen ähnlichen Aufbau.

Man kann nun die Verteilung eines in Mikromengen vorliegenden Ions zwischen einem gewissen Adsorbens und einer Lösung, die mit Ausnahme des betrachteten Ions konstante Zusammensetzung aufweist, einfach durch einen Verteilungskoeffizienten beschreiben. Gibt man die Konzentrationen an Glas durch die Konzentrationen in der Quellschicht an, so wird natürlich wegen der Ähnlichkeit der Quellschichten der gleiche Verteilungskoeffizient für Quarz- und für Natronglas gelten.

Durch einen Vergleich der experimentell erhaltenen Adsorptionswerte kann man unter Berücksichtigung der spezifischen (geometrischen) Oberflächen (cm^2/g) der beiden Gläser das Verhältnis der Dicken der beiden Quellschichten berechnen. Aus den angeführten Versuchen ergab sich, daß die Quellschicht an Quarzglas etwa ein Zehntel so dick wie die an Natronglas ist.

Tabelle 5. Vergleich der Adsorption an Natronglas und Quarzglas.
Versuchsbedingungen: Alle Proben mit Säure vorbehandelt, Adsorption aus 50 ml Lösung, Adsorptionsdauer 3 Stdn., Desorption gegen 10^{-3} m Bleinitratlösung, Desorptionsdauer 4 Stdn.

Probe	Gewicht der Probe (g)	Adsorption in % der gesamten Radiobleimenge	Desorption in % der adsorbierten Radiobleimenge
Quarzglaswolle...	0,323	27,8	59,5
Natronglaswolle..	0,298	56,9	64,0

C. Untersuchung des Glasangriffes.

Eine praktisch verwendbare Methode zur Untersuchung des Glasangriffes mittels radioaktiver Indikatoren wäre von großem Nutzen, da man mit ihrer Hilfe den Angriff bei Zimmertemperatur und in verhältnismäßig kurzen Versuchszeiten bestimmen könnte. Vom chemischen Standpunkt wäre natürlich ein Radioisotop des Siliziums für solche Untersuchungen am geeignetsten. Das einzige leicht herstellbare Radioisotop, Silizium 31, besitzt jedoch nur eine Halbwertszeit von 2,8 Stdn., so daß Versuche mit diesem Radioelement nur in Laboratorien ausgeführt werden können, die sich in der Nähe einer starken Neutronenquelle (Uranreaktor) befinden. Für zahlreiche Untersuchungen dürfte aber Markierung des Glases mit den leicht zugänglichen und hinlänglich langlebigen Radioelementen Radium D und Radium E einen nützlichen Ersatz darstellen. Allerdings darf bei Anwendung nicht übersehen werden, daß der Unterschied im Verhalten von Pb—O—Si-Bindungen und Bi—O—Si-Bindungen einerseits und Si—O—Si-Bindungen anderseits unter gewissen Bedingungen zu einer stark bevorzugten Ablösung der Radioelemente führen könnte.

Erste Versuche über die Desorption von an Glaswolle adsorbiertem Radioblei durch Lauge zeigten die zu erwartende Parallelität zwischen Ablösung des Radioelements und den der Literatur entnommenen Angaben über den Laugenangriff: Nach Adsorption von Radioblei an Glaswolle wurde diese zuerst 5 Stdn. in 10^{-3} m Bleinitratlösung suspendiert

wodurch der Großteil der locker gebundenen Radiobleiionen entfernt wurde. Dann wurden Proben der so behandelten Glaswolle mit verschiedenen Lösungen behandelt. Die Desorptionswerte (Tabelle 6) zeigen, daß Ablösung aus dem festen Bindungszustand auftritt und mit der Laugenkonzentration wächst. Bei 0,1 n NaOH ist der Angriff auf das Glasgerüst offenbar noch sehr gering. Da überdies die verdrängende Wirkung der Natriumionen gering ist, liegen die Desorptionswerte in diesem Falle sogar unterhalb jenes Wertes, der durch Verdrängung mit inaktivem Bleinitrat erhalten wurde.

Daß beim Laugenangriff gerade jene Mengen Blei und Wismut desorbiert werden, die sich in den abgelösten Schichten befinden, ergibt sich auch aus der Beobachtung, daß bei Einwirken von Lauge auf Glaswolle, an der adsorbiertes Radium D und Radium E in radioaktivem Gleichgewichte stehen, auch die abgelösten Radioelemente das gleiche Mengenverhältnis aufweisen.

Tabelle 6. Desorption von Radioblei durch Lauge.
Versuchsbedingungen: 1. Desorption 5 Stdn. gegen 10^{-3} m Bleinitratlösung, Dauer der 2. Desorption 14 Stdn.

Lösung bei 2. Desorption	Relative Desorptionswerte
10^{-3} m $Pb(NO_3)_2$	1,0
4 n NaOH	2,0
1 n NaOH	1,6
0,1 n NaOH	0,9

Versuche mit Glasproben, an denen die Radioelemente adsorbiert wurden, liefern höchstens qualitative Aussagen über den Glasangriff. Quantitative Übereinstimmung zwischen den abgelösten Mengen der Radioelemente und den abgelösten Glasmengen ist vor allem deshalb nicht möglich, weil — wie zusätzliche Versuche zeigten[8] — die Konzentration der Bleiionen schon innerhalb solcher Schichten mit zunehmender Tiefe stark abnimmt, die vom Laugenangriff bereits nach kurzer Zeit erfaßt werden.

Quantitative Ergebnisse wären wohl nach homogener Markierung durch Zugabe von Radioblei zur Glasschmelze zu erwarten.

Wir danken Prof. Dr. *L. Ebert* und Doz. Dr. *E. Broda* für die Förderung dieser Arbeit und den Kollegen *H. Volk* und Frl. *E. Rasny* für die Durchführung der Versuche an Quarzwolle. Die Messungen radioaktiver Strahlen wurden mit einem aus den Mitteln der *Treitl*-Stiftung der Österreichischen Akademie der Wissenschaften erbauten Zählgerät ausgeführt.

Eine neue thermische Zustandsgleichung der Stoffe für ihren Gas- und Flüssigkeitszustand.

Von

Joseph Himpan*.

Mit 5 Abbildungen.

(Eingelangt am 5. März 1954.)

Durch Verbesserung der Temperaturfunktion des Kohäsionsdruckes wird eine vom Verfasser früher[1] entwickelte Zustandsgleichung (mit bloß vier Stoffkonstanten) verfeinert, ohne dadurch die Einfachheit dieser Gleichung zu beeinträchtigen. Aus dieser Zustandsgleichung werden Formeln zur Berechnung der Enthalpie, Entropie, spez. Wärmen C_v und C_p, Differenz der spez. Wärmen $C_p - C_v$ und des *Joule-Thomson*-Koeffizienten für den realen Stoffzustand abgeleitet. Die Brauchbarkeit der Zustandsgleichung wird an Rechenbeispielen (p-V-p-Daten des Propans, *Boyle*-Temperatur des CO_2, Druckabhängigkeit der spez. Wärmen C_v und C_p des N_2 und *Joule-Thomson*-Koeffizient des N_2) geprüft. Es wird überall eine quantitativ befriedigende Übereinstimmung mit der Erfahrung gefunden.

I. Allgemeines.

Wir haben kürzlich in dieser Zeitschrift[1] ausführlich eine neue thermische Zustandsgleichung:

$$\left\{p + \frac{a}{T(V-b)(V-c)}\right\}\{V-d\} = RT \tag{1}$$

behandelt. Obwohl diese Gleichung von sehr einfachem Bau ist und für die eindeutige Berechnung von deren individuellen Konstanten a, b, c, d nur zwei Meßpunkte (1. Meßpunkt: krit. Punkt; 2. Meßpunkt: ein weiterer auf der *Hochdruckseite* der krit. Isotherme liegender Meßpunkt) der Stoffe bekannt sein müssen, konnten wir zeigen, daß schon diese Gleichung eine relativ recht gute quantitative Übereinstimmung

* Boîte postale 37, Suresnes (Seine), France.

[1] *J. Himpan*, Mh. Chem. 84, 787 (1953).

mit der Erfahrung sowohl im Gas- als auch Flüssigkeitsgebiet liefert. Ferner konnten wir zeigen, daß sich mittels Gl. (1) die Veränderungen der thermodynamischen Größen bei endlichem Stoffvolumen gegenüber dem idealen Gaszustand, wie der Enthalpie, Entropie, spez. Wärmen C_v und C_p usw., in einfacher Weise qualitativ und in den meisten Fällen auch einigermaßen zufriedenstellend quantitativ berechnen lassen.

In diesem Zusammenhang ist vielleicht die Bemerkung nützlich, daß nicht, wie vielfach angenommen wird, irgendeine Zustandsgleichung, welche in einem gewissen Bereich die p-V-T-Data eines Stoffes qualitativ zufriedenstellend wiederzugeben vermag, gleichzeitig auch zwangsläufig die thermodynamischen Größen in diesem Bereich zu berechnen gestattet. Hierbei können auch solche Zustandsgleichungen glatt versagen, welche die p-V-T-Data quantitativ sehr gut wiedergeben. Seit *Berthelot* ist eine ganze Reihe derartiger Zustandsgleichungen bekanntgegeben worden, die zwar in den meisten Fällen quantitativ bessere p-V-T-Data als die *Berthelot*-Gleichung liefern, dafür aber bei der Berechnung thermodynamischer Größen unbrauchbar sind, während die *Berthelot*-Gleichung, wenigstens bei geringen Drucken, eine solche Berechnung gestattet. Es hat daher den Anschein, daß der Aufbau einer thermischen Zustandsgleichung weitgehend einem inneren physikalischen Wahrheitsgehalt entsprechen muß, sollen damit *gleichzeitig* p-V-T-Data *und* thermodynamische Größen quantitativ zufriedenstellend berechnet werden können. Zustandsgleichungen, die dies nicht erlauben, können in diesem Sinne nur beschränkte physikalische Teillösungen sein.

Angesichts der erstaunlichen Leistungsfähigkeit der Gl. (1) erhebt sich nun die Frage, wie dieselbe eventuell noch weiter verbessert werden könnte, ohne ihre Einfachheit zu beeinträchtigen. Ein Weg hierfür wäre, darin noch die Temperaturfunktion des Kohäsionsdruckes zu verbessern. Dies wurde schon einmal versucht[2], indem die Temperaturfunktion $(T_c/T)^n$ anstatt von (T_c/T) eingeführt wurde. Hierzu wurde ich durch den Befund angeregt, daß sich damit unter anderem bei Berechnung der spez. Wärmen des Wassers mittels meiner Zustandsgleichung eine bessere Übereinstimmung mit den entsprechenden Angaben im Buche von *Justi*[3], die ich lange Zeit als gemessene Werte und daher als richtig ansah, erzielen ließ. Da diese Werte aber selbst nicht gemessen, sondern nach einer Zustandsgleichung von *We. Koch* berechnet worden sind, die im krit. Gebiet versagt und daher dort korrigiert werden muß, können diese Angaben nicht als Vergleichsbasis mit den Ergebnissen meiner Zustandsgleichung herangezogen werden. Tatsächlich hat sich dann auch ergeben, daß die numerische Größe dieses Temperatur-

---

[2] *J. Himpan*, Z. Physik **133**, 647 (1952).

[3] *E. Justi*, Spez. Wärme, Enthalpie, Entropie . . ., S. 31 und 32. 1938.

exponenten n von der Lage des jetzt notwendigen dritten Meßpunktes abhängt und daher für ein und denselben Stoff keine Konstante wird. Die Einführung der Temperaturfunktion $(T_c/T)^n$ in meine Gleichung stellt daher keine brauchbare Verbesserung dar und bei einem allgemeinen Vergleich ergibt sich sogar, daß die einfache Temperaturfunktion (T_c/T) im ganzen die vorteilhaftere bleibt. Deswegen ist auch von uns dann allein Gl. (1) ausführlich in [1] theor. besprochen worden und nicht auch die in [2] bekanntgegebene Zustandsgleichung.

Eine wirkliche Verbesserung der Temperaturfunktion erzielt man aber, wenn man (ebenso wie die Volumina des Kohäsionsdruckes durch *additive* Konstante zu korrigieren sind) auch die Temperatur T durch eine *additive* Konstante korrigiert, das heißt wenn man als Temperaturfunktion des Kohäsionsdruckes

$$F(T) = (T_c - f_t T_c)/(T - f_t T_c) \tag{2}$$

setzt; eine naheliegende Verbesserungsmöglichkeit, an die ich gleich von allem Anfang dachte, die aber aus den früher geschilderten Gründen zunächst nicht eingeführt wurde. Die in Gl. (2) enthaltene Größe f_t stellt, allgemein betrachtet, eine dimensionslose, individuelle, abgeleitete Konstante dar, die wir ohne weiteres durch Wahl eines zweckmäßig gewählten dritten Meßpunktes für jeden Stoff gesondert berechnen könnten. Wir wollen aber vermeiden, daß man zur Aufstellung unserer Zustandsgleichung noch einen dritten Meßpunkt benötigt. Dann bleibt nichts anderes übrig, als von einer Reihe von Stoffen unter Benützung eines günstig gewählten dritten Meßpunktes deren f_t-Werte zu berechnen, hieraus einen Mittelwert zu bilden und diesen dann als für jeden Stoff gültigen f_t-Wert allgemein einzuführen. Das erfordert aber recht langwierige Rechnungen. Vergleichsrechnungen an verschiedenen Stoffen haben indessen ergeben, daß bereits eine zufriedenstellende Verbesserung erreicht wird, wenn man einfach $f_t = -1$ setzt. Der Wert -1 für f_t muß natürlich nicht schon unbedingt dessen bester Mittelwert sein, doch ist er sicherlich bereits ein guter Mittelwert. Wir können ihn daher ohne weiteres versuchsweise allgemein einführen, da wir in der Frage der Benützung eines allgemeinen, für alle Stoffe und alle Zustandsorte brauchbaren f_t-Mittelwertes sowieso ein Kompromiß schließen müssen. Unsere thermische Zustandsgleichung lautet daher jetzt:

$$\left\{p + \frac{a}{(T + T_c)(V - b)(V - c)}\right\}\{V - d\} = RT. \tag{3}$$

In Gl. (3) bedeutet:

$$a = 2\, p_c\, V_c^2\, T_c\, f_a, \tag{4}$$

$$b = V_c\, f_b, \tag{5}$$

$$c = V_c f_c, \tag{6}$$

$$d = V_c f_d. \tag{7}$$

Man kann daher für Gl. (3) auch schreiben:

$$\left\{p + \frac{2 p_c V_c^2 T_c f_a}{(T + T_c)(V - V_c f_b)(V - V_c f_c)}\right\}\{V - V_c f_d\} = RT. \tag{3a}$$

Darin bedeuten p_c, V_c, T_c die kritischen Daten eines Stoffes. f_a, f_b, f_c, f_d sind abgeleitete individuelle Konstante, die eindeutig aus p_c, V_c, T_c und aus den Daten eines zweiten, auf der krit. Isotherme gelegenen Hochdruckpunktes p_h, V_h, T_c für jeden Stoff berechenbar sind. Das entsprechende Rechenverfahren hierfür wurde von uns bereits veröffentlicht[1] und braucht daher hier nicht nochmals wiederholt werden.

Wie zu ersehen, müssen bei Aufstellung unserer verbesserten Zustandsgleichung (3), ebenso wie bei der Zustandsgleichung (1) bloß die früher zitierten *zwei* Meßpunkte bekannt sein, was ein Minimum an notwendigen Meßwerten darstellt. Im Vergleich mit Gl. (1) wird mit Gl. (3) eine weitere Verfeinerung in der quantitativen richtigen Wiedergabe der Erfahrung erzielt. So wie die *van der Waals*sche Gleichung imstande ist, das Verhalten der Stoffe qualitativ für das gesamte Zustandsgebiet richtig wiederzugeben, ist unsere Zustandsgleichung (3) imstande, das Verhalten der Stoffe quantitativ für das gesamte Zustandsgebiet zufriedenstellend wiederzugeben. Die dabei auftretenden Fehler können dabei maximal nur wenige Prozente betragen. Dies ist ein großer Vorteil der einfachen Gl. (3), da man mit ihr quantitativ rechnen kann, ohne jemals befürchten zu müssen, sich vielleicht in einem Gebiete zu befinden, wo unsere Zustandsgleichung nicht mehr anwendbar sein könnte. Unseres Wissens nach ist bis jetzt keine andere Zustandsgleichung, auch wenn sie noch so kompliziert ist, bekannt geworden, die das gesamte Zustandsgebiet quantitativ richtig zu erfassen vermag.

Wir wollen jetzt als Beispiel unsere Zustandsgleichung (3) einmal praktisch anwenden, und zwar für Propan. Als bekannte Meßwerte stehen uns zur Verfügung[4]: 1. Meßpunkt: $p_c = 42{,}01$ Atm., $V_c = 199{,}88$ ccm/mol, $T_c = 369{,}97°$ K. 2. Meßpunkt: $p_h = 340{,}23$ Atm., $V_h = 91{,}032$ ccm/mol, $T_c = 369{,}97°$ K. Mittels dieser zwei Meßpunkte findet man: $f_a = 7{,}2934$, $f_b = 0{,}3175$, $f_c = -1{,}2939$, $f_d = 0{,}3611$. Laut Gl. (3a) lautet daher die thermische Zustandsgleichung des Propan (p in Atm., V in ccm/mol, T in ° K, $R = 82{,}0567$ ccm/Atm.·° K · mol):

$$p = \frac{RT}{(V - 72{,}177)} - \frac{9{,}0577 \cdot 10^9}{(T + 369{,}97)(V - 63{,}462)(V + 258{,}625)}. \tag{8}$$

Wir haben mittels Gl. (8) zwei Isothermen des Propans ermittelt und in Abb. 1 dargestellt. Darin sind auch die diesbezüglichen Angaben

von *Reamer, Sage* und *Lacey*[4] eingetragen. Man erkennt aus dieser Abbildung die befriedigende qualitative und quantitative Übereinstimmung. Leider stand uns zur Aufstellung der Zustandsgleichung des Propans als Hochdruckpunkt nur ein Meßpunkt zur Verfügung, der sich noch nicht besonders weit im Hochdruckgebiet befindet. Mit einem anderen gemessenen Hochdruckpunkt, der noch tiefer im Hochdruckgebiet liegen müßte, würde die quantitative Übereinstimmung eine noch bessere werden.

Die „reduzierte" Form der Gl. (3) bzw. Gl. (3a) ergibt sich mit $\pi = p/p_c$, $\Omega = V/V_c$, $\tau = T/T_c$, $s = RT_c/p_cV_c$ (kritischer Faktor) zu:

$$\left\{\pi + \frac{3f_a}{(\tau+1)(\Omega-f_b)(\Omega-f_c)}\right\}\{\Omega - f_d\} = s\,\tau. \qquad (9)$$

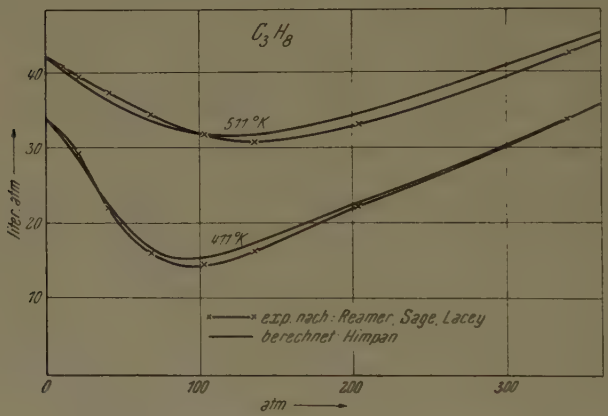


Abb. 1. Isothermen des Propans im p-V-p-Diagramm.

Da die abgeleiteten individuellen Konstanten f_a, f_b, f_c, f_d sowie die Größe s von Stoff zu Stoff verschieden sind, folgt aus der reduzierten Zustandsgleichung (9), daß alle Stoffe sich bei Darstellung durch ihre reduzierte Zustandsgleichung nicht gleich, sondern nur ähnlich benehmen. Das aus der reduzierten *van der Waals*schen Gleichung, welche keinerlei individuelle Konstante mehr enthält, gefolgerte Gesetz der *übereinstimmenden* Zustände muß daher durch ein Gesetz der *ähnlichen* Zustände ersetzt werden.

Eine einfache, übersichtliche Beziehung zur Berechnung der Stellen, wo sich ein Stoff wie ein „*Boyle-Mariotte*-Stoff", also wie ein „idealer" Stoff verhält, läßt sich in einfacher Weise mittels Gl. (9) angeben. Setzt man nämlich in dieser Gleichung voraus, daß die Beziehung für das „ideale" Gasgesetz $\pi\,\Omega = s\,\tau$ erfüllt ist (besser ist es, den übergeordneten

[4] *H. H. Reamer, B. H. Sage* und *W. N. Lacey*, Ind. Eng. Chem. **41**, 482 (1949).

Begriff „ideales" Stoffgesetz zu verwenden, da ja gleichzeitig der Gas- und Flüssigkeitszustand miterfaßt werden sollen), so findet man z. B.:

$$\frac{2 f_a (s \tau_B - \pi_B f_d)}{f_d (\tau_B + 1)(s \tau_B - \pi_B f_b)(s \tau_B - \pi_B f_c)} - 1 = 0. \qquad (10)$$

(Der Index B ist in Gl. (10) zur Kennzeichnung dafür angebracht, daß numerische Rechenwerte der Variablen dieser Gleichung immer jenen Stellen entsprechen, wo der betrachtete Stoff gerade das „ideale" Stoffgesetz $p V = R T$ bzw. $\pi \Omega = s \tau$ erfüllt.) Ein Beispiel mag die Anwendung der Gl. (10) zeigen. Es ist für Kohlendioxyd (CO_2) der Temperaturverlauf als Funktion des Druckes zu bestimmen, wo diese die Bedingung $p V = R T$ erfüllt, also sich wie ein idealer Stoff verhält. Für CO_2 haben wir schon früher einmal gefunden (vgl. hierüber die Angaben in [1]): $f_a = 7{,}2211$, $f_b = 0{,}2829$, $f_c = -1{,}2559$, $f_d = 0{,}3340$, $s = 3{,}639$. führt man diese Werte in Gl. (10) ein, so erhält man:

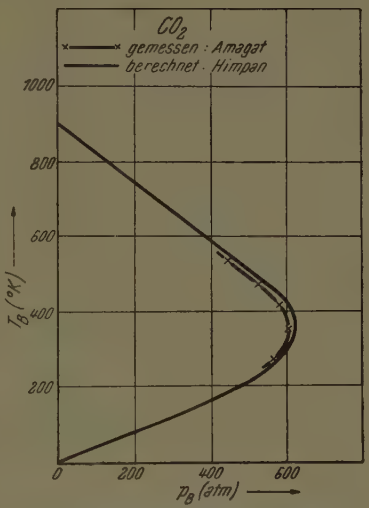


Abb. 2. *Boyle-Mariotte*-Zustandsgrößen des CO_2.

$$\frac{43{,}240\,(3{,}639\,\tau_B - 0{,}3340\,\pi_B)}{(\tau_B + 1)(3{,}639\,\tau_B - 0{,}2829\,\pi_B)(3{,}639\,\tau_B + 1{,}2559\,\pi_B)} - 1 = 0. \qquad (11)$$

Sucht man jetzt aus Gl. (11) den funktionellen Zusammenhang zwischen τ_B und π_B, so findet man das in Abb. 2 dargestellte Ergebnis (unter Berücksichtigung von $T_B = 304{,}2 \cdot \tau_B$ und $p_B = 72{,}9 \cdot \pi_B$). In diesem Bild sind auch die Meßergebnisse von *Amagat*[5] eingetragen. Man erkennt daraus die befriedigende quantitative Übereinstimmung mit der Erfahrung.

Wir bringen jetzt eine Zusammenstellung der krit. Daten p_c, V_c, T_c verschiedener Stoffe, da deren Kenntnis eine der Voraussetzungen für die Aufstellung unserer Zustandsgleichung ist. Bei Gelegenheit einer späteren Veröffentlichung, worin wir zeigen werden, wie unsere Zustandsgleichung für beliebige Stoffgemische angewandt werden kann, werden wir dann eine weitere Tabelle mit Meßdaten p_h, V_h, T_c von verschiedenen Stoffen bringen, da deren Kenntnis die zweite notwendige Voraussetzung zur Aufstellung unserer Zustandsgleichung ist. In diesem Zusammenhang

[5] *E. H. Amagat*, Ann. chim. physique (VI) **29**, 68 (1893).

Tabelle 1. Kritische Daten und kritische Faktoren verschiedener Stoffe (geordnet nach steigendem Molgewicht).

Stoff	Formel	M	p_c Atm.	V_c ccm/mol	T_c °K	s	Quelle
Wasserstoff	H_2	2,016	12,80	64,99	33,18	3,273	*Loisy*[6]
Helium	He	4,003	2,261	57,76	5,23	3,286	*Lange*[7]
Methan	CH_4	16,042	45,8	99,33	191,1	3,447	*Lange*
Ammoniak	NH_3	17,032	112,3	72,95	406,1	4,068	*Lange*
Wasser	H_2O	18,016	218,0	57,61	647,4	4,230	*Stull*[8]
Neon	Ne	20,183	26,9	41,70	44,5	3,255	*D'Ans* und *Lax*[9]
Acetylen	C_2H_2	26,036	61,7	113,20	309,2	3,633	*Lange*
Cyanwasserstoff	HCN	27,026	53	138,59	456,7	5,102	*D'Ans* und *Lax*
Kohlenoxyd	CO	28,010	34,53	90,06	134,2	3,440	*Greatch*[10]
Stickstoff	N_2	28,016	33,49	90,08	125,96	3,426	*Loisy*
Äthylen	C_2H_4	28,052	50,6	133,58	282,8	3,433	*Lange*
Luft		28,960	37,2	82,74	132,5	3,533	*Lange*
Stickoxyd	NO	30,008	64,6	57,7	180,3	3,969	*Stull*
Äthan	C_2H_6	30,068	48,2	136,67	305,5	3,805	*Lange*
Sauerstoff	O_2	32,000	49,713	74,44	154,27	3,421	*Loisy*
Methylalkohol	CH_3OH	32,042	78,67	117,71	513,1	4,559	*Lange*
Phosphin	PH_3	34,004	64,5	113,35	324,5	3,642	*Lange*
Chlorwasserstoff	HCl	36,465	81,6	86,01	324,6	3,801	*Lange*
Argon	A	39,944	47,996	75,25	150,72	3,424	*Lange*
Acetonitril	CH_3CN	41,052	47,7	171,05	547,9	5,510	*Lange*
Kohlendioxyd	CO_2	44,010	72,9	94,00	304,2	3,639	*Loisy*
Stickoxydul	N_2O	44,016	71,7	97,60	309,7	3,632	*Lange*
Propan	C_3H_8	44,094	42,01	199,89	370,0	3,615	Bureau of Standards[11]
Äthylamin	C_2H_7N	45,084	56	181,77	456,8	3,682	*D'Ans* und *Lax*
Stickstoffdioxyd	NO_2	46,008	99,96	80,76	431,38	4,385	*Stull*
Äthylalkohol	C_2H_5OH	46,068	63,11	167,22	516,3	4,026	*Lange*
Dimethyläther	$(CH_3)_2O$	46,068	52,0	169,74	400,1	3,720	*Lange*
Ozon	O_3	48,000	67	89,39	268,2	3,674	*Pascal*[12]
Methylmercaptan	CH_3SH	48,108	71,4	148,94	470,0	3,627	*Lange*
Methylchlorid	CH_3Cl	50,491	65,8	138,33	416,3	3,753	*Lange*
Propionitril	C_2H_5CN	55,078	41,3	228,54	564,4	4,907	*Lange*

Essigsäure	CH_3CO_2H	60,052	57,21	171,28	594,8	4,981	*Lange*
Ameisensäuremethylester	HCO_2CH_3	60,052	59,15	172,12	487,2	3,927	*Lange*
Methyläthyläther	$CH_3OC_2H_5$	60,094	43,4	222,57	437,9	3,720	*Lange*
Propylalkohol	C_3H_7OH	60,094	49,95	219,80	536,9	4,013	*Lange*
Nitromethan	CH_3NO_2	61,042	62,3	173,40	588	4,466	*Griffin*[14]
Äthylmercaptan	C_2H_5SH	62,134	54,2	206,43	498,7	3,657	*Lange*
Methylsulfid	$(CH_3)_2S$	62,134	54,6	203,05	503,1	3,724	*Lange*
Schwefeldioxyd	SO_2	64,066	77,7	124,96	430,4	3,637	*Lange*
Schwefel	S_2	64,132	116	159,14	1313,2	5,837	*West*[15]
Äthylchlorid	C_2H_5Cl	64,517	51,6	194,92	460,4	3,756	*Lange*
Chlor	Cl_2	70,914	76,1	123,76	417,2	3,635	*Ziegler*[16]
n-Pentan	C_5H_{12}	72,146	33,03	310,57	470,4	3,763	*Lange*
i-Pentan	C_5H_{12}	72,146	32,9	307,9	460,9	3,735	Bureau of Standards
Diäthylamin	$(C_2H_5)_2NH$	73,136	36,2	297,3	496,7	3,787	*Lange*
Ameisensäureäthylester	$C_3H_6O_2$	74,078	49,16	231,49	506,3	3,651	*D'Ans* und *Lax*
Essigsäuremethylester	$C_3H_6O_2$	74,078	47,54	227,93	506,1	3,833	*D'Ans* und *Lax*
Propionsäure	$C_3H_6O_2$	74,078	53,0	235,17	612,7	4,034	*Lange*
Diäthyläther	$C_4H_{10}O$	74,120	35,5	279,70	467,0	3,859	*D'Ans* und *Lax*
Benzol	C_6H_6	78,108	48,66	262,47	561,6	3,755	*Dreisbach, Spencer*[17]
Schwefeltrioxyd	SO_3	80,066	83,6	126,78	491,5	3,805	*Stull*
Bromwasserstoff	HBr	80,924	84	100,28	363,2	3,538	*D'Ans* und *Lax*
Krypton	Kr	83,7	54,2	92,08	209,4	3,443	*D'Ans* und *Lax*
Cyclohexan	C_6H_{12}	84,156	40,57	311,34	554,2	3,600	*Lange*
n-Hexan	C_6H_{14}	86,172	29,61	367,63	508,0	3,829	*Lange*
Essigsäureäthylester	$C_4H_8O_2$	88,104	38,00	286,05	523,3	3,950	*D'Ans* und *Lax*
Propionsäuremethylester	$C_4H_8O_2$	88,104	39,52	282,02	530,6	3,907	*D'Ans* und *Lax*
Ameisensäurepropylester	$C_4H_8O_2$	88,104	40,06	284,85	538,01	3,869	*Lange*

[6] *R. Loisy*, J. chim. phys. Nr. 1/2, 10 (1950). — [7] *N. A. Lange*, Handbook of Chemistry, S. 1463—1476. 1949. — [8] *D. R. Stull*, Ind. Eng. Chem. **39**, 517, 546 (1947). — [9] *J. D'Ans* und *E. Lax*, Taschenbuch für Chemiker und Physiker, S. 822—827. 1949. — [10] *S. Gratch*, Trans. ASME **70**, 634 (1948). — [11] Nat. Bureau of Standards, Washington, Oct. 31, 1948, June 30, 1949. — [12] *P. Pascal*, Traité de Chimie Minérale, S. 361. 1931. — [13] *J. A. Beattie, S. Marple* und *D. G. Edwards*, J. Chem. Physics **18**, 127 (1950). — [14] *D. N. Griffin*, J. Amer. Chem. Soc. **71**, 1426 (1949). — [15] *J. R. West*, Ind. Eng. Chem. **42**, 713 (1950). — [16] *L. Ziegler*, Chem. Ing. Techn. **22**, 229 (1950). — [17] *R. R. Dreisbach* und *R. S. Spencer*, Ind. Eng. Chem. **41**, 1365 (1949).

(Fortsetzung der Tabelle 1.)

Stoff	Formel	M	p_c Atm.	V_c ccm/mol	T_c ° K	s	Quelle
Äthylpropyläther	$C_5H_{12}O$	88,146	32,1	341,65	500,6	3,746	*Lange*
Äthylsulfid	$(C_2H_5)_2S$	90,186	39,1	323,25	557,0	3,616	*Lange*
Stickstofftetroxyd	N_2O_4	92,016	99	81,5	431,2	4,385	*Stull*
Fluorbenzol	C_6H_5F	96,100	44,61	271,39	559,7	3,793	*Lange*
Phosgen	$COCl_2$	98,924	56	190,24	455,2	3,506	*Lange*
n-Heptan	C_7H_{16}	100,198	26,84	428,01	540,01	3,857	*Lange*
Triptan	C_7H_{16}	100,198	29,75	394	531,5	3,717	Bureau of Standards
Triäthylamin	$(C_2H_5)_3N$	101,188	30	403,14	535,2	3,631	*Lange*
Ameisensäure-i-butylester	$C_5H_{10}O_2$	102,130	38,29	354,62	551,4	3,332	*D'Ans* und *Lax*
n-Buttersäuremethylester	$C_5H_{10}O_2$	102,130	34,28	340,43	554,5	3,899	*D'Ans* und *Lax*
i-Buttersäuremethylester	$C_5H_{10}O_2$	102,130	33,87	339,30	540,71	3,861	*D'Ans* und *Lax*
Essigsäurepropylester	$C_5H_{10}O_2$	102,130	33,19	345,03	549,4	3,937	*D'Ans* und *Lax*
Propionsäureäthylester	$C_5H_{10}O_2$	102,130	34,64	357,10	545,6	3,619	*D'Ans* und *Lax*
Trifluorchlormethan	CF_3Cl	104,467	38,1	179,81	301,91	3,616	*D'Ans* und *Lax*
Äthylbromid	C_2H_5Br	108,976	61,5	214,94	504,0	3,129 ?	*D'Ans* und *Lax*
Chlorbenzol	C_6H_5Cl	112,557	44,61	308,04	632,4	3,776	*Lange*
n-Oktan	C_8H_{18}	114,224	24,61	490,86	569,4	3,868	*Lange*
Ameisensäureamylester	$C_6H_{12}O_2$	116,156	34,12	411,90	575,8	3,362	*D'Ans* und *Lax*
n-Buttersäureäthylester	$C_6H_{12}O_2$	116,156	30,24	420,86	566,0	3,649	*D'Ans* und *Lax*
i-Buttersäureäthylester	$C_6H_{12}O_2$	116,156	30,13	420,86	553,6	3,582	*D'Ans* und *Lax*
Essigsäure-i-butylester	$C_6H_{12}O_2$	116,156	31,4	413,37	561,5	3,550	*D'Ans* und *Lax*
Chloroform	$CHCl_3$	119,389	54,9	240,71	533,2	3,311	*D'Ans* und *Lax*
Difluordichlormethan	CF_2Cl_2	120,924	39,6	217,87	384,7	3,659	*D'Ans* und *Lax*
Xenon	Xe	131,300	58,22	113,78	289,8	3,590	*Lange*
n-Dekan	$C_{10}H_{22}$	142,276	20,5	618,70	619,2	4,006	*D'Ans* und *Lax*
Tetrachlorkohlenstoff	CCl_4	153,838	45,00	275,89	556,31	3,677	*Lange*
Brombenzol	C_6H_5Br	157,016	44,61	323,14	670,2	3,815	*Lange*
Jodbenzol	C_6H_5I	204,020	44,61	350,91	721,2	3,780	*Lange*
Zinnchlorid	$SnCl_4$	260,528	36,95	351,12	591,9	3,744	*Lange*

werden die Herren Autoren, die *p-V-Messungen im Hochdruckgebiete* bei oder nahe der krit. Temperatur durchgeführt haben, gebeten, *mir ihre Meßergebnisse mitzuteilen*, damit unsere Zusammenstellung von Hochdruckmeßpunkten recht umfangreich ausfallen kann.

II. Die Berechnung der Veränderung thermodynamischer Größen bei endlichem Stoffvolumen.

Thermodynamische Größen, wie Enthalpie, Entropie usw., werden gewöhnlich für den sogenannten „idealen" Gaszustand, das heißt für den Druck $p = 0$ oder, was dasselbe bedeutet, für das Volumen $V = \infty$ angegeben. Offensichtlich stellen solche numerischen Werte thermodynamischer Größen nur *Grenzwerte* dar. Diese genügen zwar für viele Fälle der Praxis, solange eben ihre Abweichungen gegenüber den für den realen Stoffzustand geltenden thermodynamischen Größen tragbar klein bleiben. Aber in vielen wichtigen Anwendungen der Thermodynamik, insbesondere in der Technik, kann nicht mehr mit den „idealen" thermodynamischen Größen gerechnet werden, da deren Abweichungen gegenüber den realen thermodynamischen Größen untragbar groß werden würden. Diese Abweichungen, deren Kenntnis also sehr wichtig ist, lassen sich nun mit unserer Zustandsgleichung einfach berechnen; wir bringen daher im nachfolgenden die wichtigsten Berechnungsformeln dafür, welche aus Gl. (3) abgeleitet worden sind.

Entropie $(S = \left(S^{\mathrm{id}}_{p=1}\right)_T + \Delta S)$:

$$\Delta S = R\left\{\ln (D/D^*) + \frac{a \cdot \ln (BC^*/CB^*)}{R\,(T+T_c)^2\,(b-c)}\right\}. \tag{12}$$

Enthalpie $(H = (H_{p=0})_T + \Delta H)$:

$$\Delta H = R\,T\left\{\frac{d}{D} - \frac{a\,(2\,T+T_c)\ln (C/B)}{RT\,(T+T_c)^2\,(b-c)} - \frac{a\,V}{RT\,(T+T_c)\,BC}\right\}. \tag{13}$$

Spez. Wärme C_v $(C_v = (C_{v=\infty})_T + \Delta C_v)$:

$$\Delta C_v = \frac{2\,a\,T \cdot \ln (C/B)}{(b-c)\,(T+T_c)^3}. \tag{14}$$

Spez. Wärme C_p $(C_p = (C_{p=0})_T + \Delta C_p)$:

$$\Delta C_p = R\left\{\frac{[1 + a\,(D/BC)/R\,(T+T_c)^2]^2}{1 - a\,(B+C)\,(D/BC)^2/RT\,(T+T_c)} - 1 + \frac{2\,a\,T \cdot \ln (C/B)}{R\,(T+T_c)^3\,(b-c)}\right\}. \tag{15}$$

Differenz der spez. Wärmen:

$$(C_p = C_v)_T - R \cdot \frac{[1 + a\,(D/BC)/R(T+T_c)]^2}{1 - a\,(B+C)\,(D/BC)^2/RT\,(T+T_c)}. \tag{16}$$

Joule-Thomson-Effekt $\left(\delta = (\delta T/\delta p)_H = \frac{T(\delta V/\delta T) - V}{C_p}\right)$:

$$\delta = \frac{\frac{aT}{(T+T_c)^2 BC} + \frac{aV(B+C)}{(T+T_c)(BC)^2} - \frac{RTd}{D^2}}{[(C_{p=0})_T + \Delta C_p]\left[\frac{RT}{D^2} - \frac{a(B+C)}{(T+T_c)(BC)^2}\right]}. \quad (17)$$

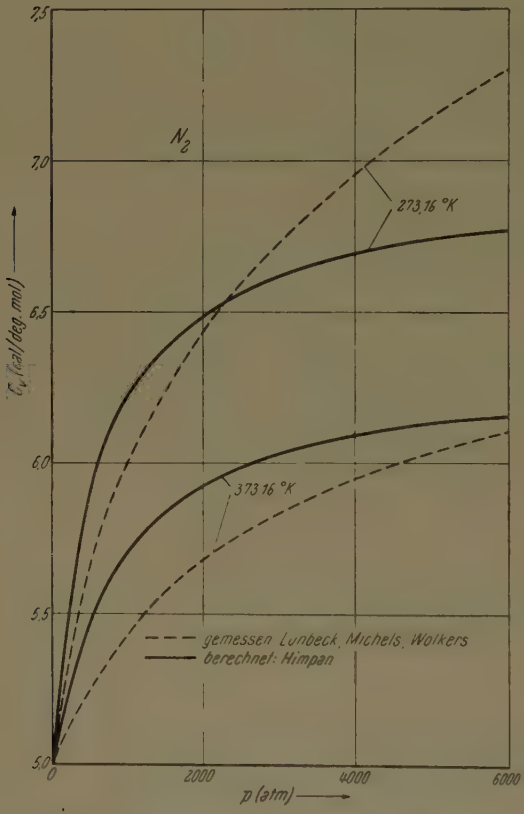


Abb. 3. Die Druckabhängigkeit der spez. Wärme C_v des N_2 bei verschiedenen Temperaturen.

In Gl. (17) ist für ΔC_p die Beziehung (15) einzusetzen. In den Gl. (12) bis (17) haben die Abkürzungen B, C, D, B^*, C^*, D^* folgende Bedeutung:

$$B = V - b, \quad (18)$$

$$C = V - c, \quad (19)$$

$$D = V - d, \quad (20)$$

$$B^* = \left(V^{id}_{p=1}\right)_T - b, \quad (21)$$

$$C^* = \left(V^{id}_{p=1}\right)_T - c, \quad (22)$$

$$D^* = \left(V^{id}_{p=1}\right)_T - d. \quad (23)$$

Die Formeln (12) bis (17), die, wie schon früher erwähnt, sich aus Gl. (3) ableiten lassen, bringen eine weitere Verfeinerung in der quantitativen Wiedergabe der durch dieselben berechenbaren thermodynamischen Größen im Vergleich mit den sich aus Gl. (1) ergebenden entsprechenden Formeln, die wir bereits früher in [1] veröffentlicht haben.

Wir bringen jetzt einige praktische Beispiele der Gl. (12) bis (17).

1. Beispiel: Es ist die spez. Wärme C_v des Stickstoffes bei den Temperaturen 273,16° K und 373,16° K von 0 bis 6000 Atm. zu berechnen. Dazu brauchen wir die thermische Zustandsgleichung des N_2. Diese lautet (vgl. auch hierzu die Angaben in [1]):

$$p = \frac{82{,}0567 \cdot T}{(V - 25{,}231)} - \frac{3{,}95986 \cdot 10^8}{(T + 125{,}96)(V - 16.872)(V + 80{,}468)}. \quad (24)$$

Also ist $a = 3{,}95986 \cdot 10^8$ Atm. (ccm/mol)$^2 \cdot$ ° K; $b = 16{,}872$ ccm/mol; $c = -80{,}468$ ccm/mol. Letztere Größen sind in Gl. (14) einzuführen, sowie zunächst die Temperatur $T = 273{,}16°$ K. Hierauf ermittelt man für verschiedene Volumina V die sich aus Gl. (14) ergebenden ΔC_v und mittels Gl. (24) die diesen Voluminas entsprechenden Drucke p. Derselbe Vorgang ist für die Temperatur $T = 373{,}16°$ K durchzuführen. Das

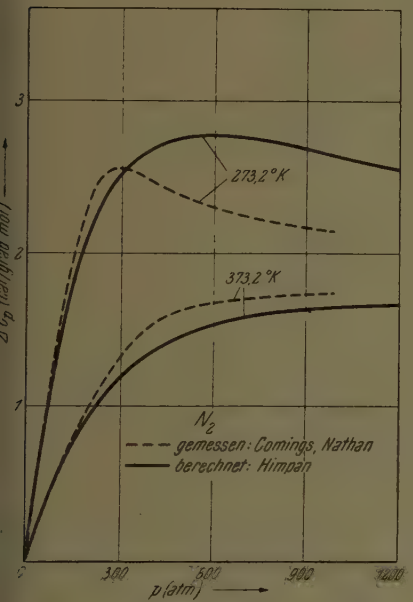


Abb. 4. Die Druckabhängigkeit der spez. Wärme C_p des N_2 bei verschiedenen Temperaturen.

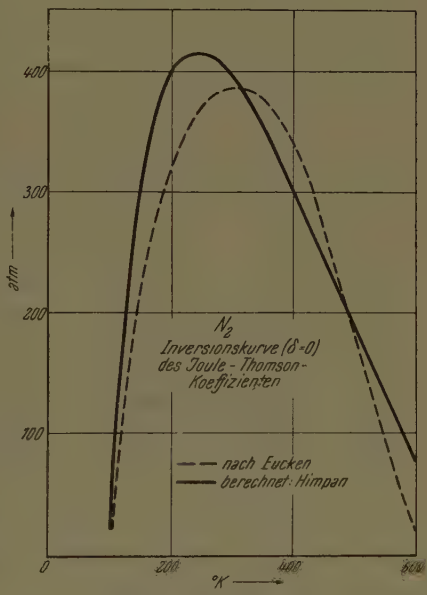


Abb. 5. Inversionskurve des *Joule-Thomson*-Koeffizienten des N_2.

Ergebnis unserer Rechnung ist in Abb. 3 eingezeichnet, worin auch die diesbezüglichen Angaben von *Lunbeck*, *Michels* und *Wolkers*[18] eingetragen sind. Aus dieser Abbildung sowie aus Tabelle 2 ist die befriedigende Übereinstimmung unserer Berechnung mit der Erfahrung zu entnehmen, während sich bei Berechnung von C_v nach der oft benützten *Berthelot*-schen Zustandsgleichung bei höheren Drucken Fehler bis zu einigen hundert Prozent ergeben können.

2. Beispiel: Es ist die Veränderung der spez. Wärme C_p des Stickstoffes gegenüber dem idealen Gaszustand bei den Temperaturen 273,2° K und 373,2° K bei Drucken von 0 bis 1200 Atm. zu bestimmen. Unter Verwendung der Gl. (15) und Gl. (24) findet man das in Abb. 4 dargestellte Ergebnis, worin auch die entsprechenden Angaben von

[18] *R. J. Lunbeck, A. Michels* und *G. J. Wolkers*, Applied Sci. Research, Ser. A **3**, 197 (1952).

Tabelle 2. Druckabhängigkeit der spez. Wärme C_v des Stickstoffes.

p Atm.	273,16° K			373,16° K		
	C_v cal/deg. mol nach *Lunbeck, Michels, Wolkers*	Fehler in % bei Berechnung nach		C_v cal/deg. mol nach *Lunbeck, Michels, Wolkers*	Fehler in % bei Berechnung nach	
		Berthelot	*Himpan*		*Berthelot*	*Himpan*
0	4,970	0	0	4,989	0	0
100	5,20	+ 5,0	+ 1,7	5,075	+ 2,1	+ 0,5
200	5,35	11,1	2,5	5,12	5,0	1,5
300	5,46	18,0	3,2	5,16	7,9	2,7
400	5,56	24,6	4,0	5,195	10,8	4,0
600	5,735	38,0	4,5	5,28	16,2	5,0
800	5,88	51,2	4,2	5,36	21,9	5,0
1000	6,00	64,6	4,0	5,43	27,2	5,0
1200	6,11	78,1	3,2	5,495	32,7	4,7
1500	6,25	97	2,2	5,575	41,4	4,5
2000	6,44	130	0,7	5,68	55,5	4,5
2500	6,60	161	— 0,5	5,77	69,6	3,3
3000	6,735	192	— 1,8	5,84	84,2	3,2
3500	6,85	224	— 2,7	5,90	98,8	2,8
4000	6,96	254	— 3,8	5,95	115	2,5
4500	7,055	284	— 4,5	5,99	128	2,2
5000	7,15	313	— 5,7	6,035	142	1,7
5500	7,23	342	— 6,7	6,075	156	1,2
6000	7,30	371	— 7,4	6,11	171	0,7

Comings und *Nathan*[19] eingetragen sind. Auch hier ergibt sich wieder eine befriedigende Übereinstimmung mit der Erfahrung. Nützlich wird ein Vergleich dieser Abbildung mit Abb. 4 in[1] sein.

3. Beispiel: Es ist die Inversionskurve ($\delta = 0$) des *Joule-Thomson*-Effektes des Stickstoffes zu ermitteln. Anwendung von Gl. (17) und Gl. (24) ergibt das in Abb. 5 dargestellte Ergebnis. Im Vergleich mit den Angaben von *Eucken*[20] finden wir wieder eine zufriedenstellende quantitative Übereinstimmung.

[19] *E. W. Comings* und *H. F. Nathan*, Ind. Eng. Chem. **39**, 964 (1947).
[20] *A. Eucken*, Grundriß der physikalischen Chemie, 5. Aufl., S. 114. 1942.

Wird Autoxydation durch Chlorion katalysiert?

Von
E. Abel*.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 18. März 1954.)

Die Frage, ob Autoxydation durch Chlorion im Wege zwischenzeitlicher Freisetzung von Chlor (außerordentlich geringer Konzentration) katalysiert wird, läßt sich zur Zeit nicht mit Sicherheit beantworten, doch scheint die Kinetik der Autoxydation von Zinnchlorür und von Titanchlorür auf solche Katalyse hinzuweisen; an Hand der Kinetik der erstgenannten Reaktion wird der Mechanismus dieser Wirkungsweise entwickelt.

Vom *thermodynamischen* Gesichtspunkt ist Chlorionkatalyse der Autoxydation von X:

$$O_2 + 4\,Cl^- + 4\,H^+ \rightarrow 2\,Cl_2\,(aq.) + 2\,H_2O\,[1]$$

$$2\,(Cl_2 + 2\,X \rightarrow 2\,X^+ + 2\,Cl^-)$$

an die Voraussetzung geknüpft, daß die sich in Zusammenhalt mit der Cl_2-X-Reaktion einstellende stationäre Cl_2 (aq.)-Konzentration hinreichend geringfügig ist, um einen negativen Betrag von ΔF zu gewährleisten; diese Voraussetzung hängt von der Geschwindigkeit ab, mit der Cl_2 und X miteinander reagieren. Ob *kinetisch* eine solche Katalyse in der Tat statthat, kann natürlich nur das Experiment entscheiden.

Nun ist, worauf ich schon gelegentlich hingewiesen habe, die Literatur zur Kinetik von Autoxydationen — speziell anorganischer Verbindungen — in wäßrigem System nicht sehr reichhaltig und insbesondere nicht

* 63, Hamilton Terrace, London, N. W. 8.

[1] $\Delta F^\circ_{25^\circ} = +\,15\,648$ cal (*G. N. Lewis* und *M. Randall*, Thermodynamik und die freie Energie chemischer Substanzen; übersetzt von *O. Redlich*, Wien: J. Springer, 1927).

detailliert genug, um die im Titel gestellte Frage an Hand des vorliegende experimentellen Materials mit Sicherheit beantworten zu können. Durch sicht der Literatur wies mir kaum mehr als zwei Fälle auf, in dene Oxydation mittels Sauerstoffes in Gegenwart von Chlorion kinetisc verfolgt worden ist — *Autoxydation von Zinn*-[2] und von *Titanchlorür* in salzsaurer Lösung; auch diese beiden kinetischen Untersuchungen sind bei weitem nicht hinreichend umfänglich und nicht systematisch genug durchgeführt, um eine klare Einsicht in das in Rede stehend Problem zu ermöglichen; immerhin sei in Hinblick auf die nicht unwichtig Rolle, die Chlorion im Autoxydationsvorgang spielen könnte, zusammen gestellt, was die genannten Arbeiten zu der beregten Frage beizutrage vermögen.

Sie zeigen in bestimmter Richtung ein übereinstimmendes Verhalten dessen Eigenartigkeit aus Tabelle 1[5] und in graphischer Darstellun aus Abb. 1 unmittelbar hervorgeht[6]: mit *abnehmendem* Sn^{2+}[7] bzw Ti^{3+}-Gehalt[8] *wächst* unter sonst unveränderten Versuchsbedingunge

---

[2] *S. J. Lachman* und *F. C. Tompkins*, Trans. Faraday Soc. **40**, 130 136 (1944); daselbst ausführliche Hinweise auf vorangegangene Literatu die jedoch zu der hier beregten Frage Klärendes kaum beiträgt. Ähnliche gilt in bezug auf eine kürzlich erschienene Arbeit von *E. H. Baker*, Autoxyda tion of tin solutions; the action of inhibitors, J. Appl. Chem. London **3** 323 (1953).

[3] *H. A. E. Mackenzie* und *F. C. Tompkins*, Trans. Faraday Soc. **38** 465 (1942). Siehe daselbst (S. 468) eine Bemerkung über die Schnelligkei der Reaktion zwischen Chlor und Titanchlorür.

[4] Untersuchungen von *A. M. Posner* über Autoxydation stark salzsaure Ferrochloridlösungen [Trans. Faraday Soc. **49**, 382 (1953)] könnten in da hier behandelte Kapitel gehören, doch lassen sie sich in dieser Richtun nicht verwerten.

[5] Siehe die in Anm. 2 zitierte Arbeit, S. 138, Tabelle 1, Serie D.

[6] Bei Titanchlorür weisen die Verfasser auf diese auffällige Erscheinun hin: „At high concentrations of $TiCl_3$, the initial velocity was approximatel proportional to the concentration, but there was a large divergence in th more dilute solutions."

[7] Im folgenden seien insbesondere die Ergebnisse an *Zinn*chlorürlösunge herangezogen, die bei weitem umfangreicher und durchsichtiger sind al jene an Titanchlorürlösungen.

[8] Dieser — analytische — Gehalt wird im folgenden mit (Sn^{2+}) bzw (Ti^{3+}) bezeichnet. — Detaillierte Analyse der bekanntlich komplizierte und wenig geklärten Dissoziations- und Komplexverhältnisse dieser Salz [siehe ad Zinn *M. Prytz*, Z. anorg. Chem. **172**, 147 (1928); **174**, 333 (1928) sowie Bloßlegung der bezüglichen Mechanismen, soweit das Metallsalz a sich geschwindigkeitbestimmend ist, liegt außerhalb des Rahmens vorlieger der Ausführungen, die vorerst lediglich auf Beziehungen in Richtung ab nehmenden Einflusses des Gehaltes an Metallsalz hinweisen wollen. Sovi aber sei bereits an dieser Stelle bemerkt, daß die von *Mackenzie* und *Tompkin* und von *Lachman* und *Tompkins* entwickelten Formulierungen für Mechani mus und Geschwindigkeit mir nicht zutreffend erscheinen.

das Verhältnis zwischen Reaktionsgeschwindigkeit[9] *(v)* und Gehalt, und zwar in einer Weise, die in Anbetracht der Substratzusammensetzung

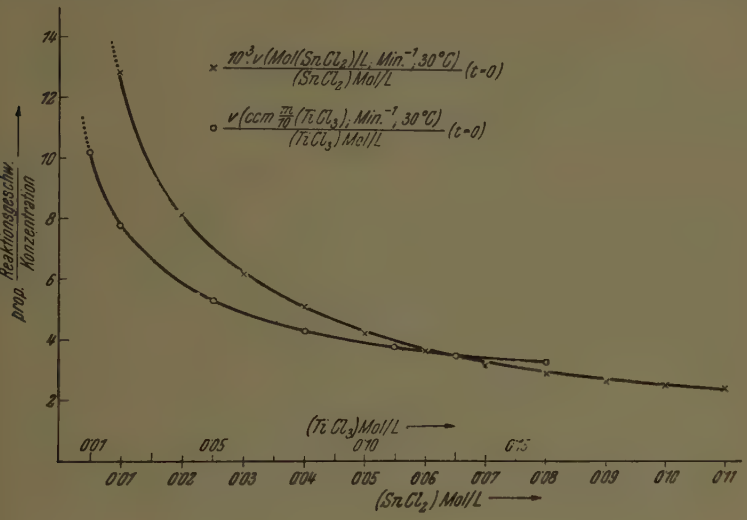


Abb. 1.

Tabelle 1[10, 11].

$(SnCl_2)$ Mol/l c	$\frac{v_0}{c} \cdot 10^3$ Min.$^{-1}$	$(TiCl_3)$ Mol/l c	$\frac{v_0}{c}$ ccm $\frac{m}{10}TiCl_3 \cdot c^{-1}$; Min.$^{-1}$
0,11	2,38	0,16	3,3
0,10	2,53	0,13	3,56
0,09	2,72	0,11	3,8
0,08	2,95	0,08	4,3
0,07	3,2	0,05	5,3
0,06	3,7	0,02	7,8
0,05	4,3	0,01	10,2
0,04	5,1	↓	↓
0,03	6,2	limes (?)	
0,02	8,1	Null	∞
0,01	12,8		
↓	↓		
limes (?)			
Null	∞		

[9] Der — konstant gehaltene — Sauerstoffdruck (p_{O_2}) ist durchwegs in die nachfolgenden Beziehungen mit eingeschlossen. Daß die Reaktionsgeschwindigkeit dem Sauerstoffdruck proportional ist, wurde von *Mackenzie* und *Tompkins* experimentell erwiesen.

[10] Über die näheren Versuchsbedingungen siehe Tabelle 2.

[11] Sämtliche Versuche beziehen sich auf 30° C; $v_0 = v_{t=0}$.

kaum auf Veränderung der Metallchlorür-„Konfiguration" zurückgeführt werden kann.

Solches Verhalten läßt sich — zunächst in rein empirischer Formulierung — wohl am einfachsten dahin deuten, daß mit *abnehmender* Substratkonzentration im Rahmen der Geschwindigkeitsbeziehung ein *additiver Term zunehmend* in Erscheinung tritt. Solcherart wäre die Reaktionsgeschwindigkeit in die Form

$$v = v_{\text{Substrat} \to 0} + f\,(c_{\text{Substrat}})$$

zu kleiden, so daß bei Extrapolation auf die Substratkonzentration null der erste Term mit der Reaktionsgeschwindigkeit zusammenfiele.

Eine Versuchsreihe (Tabelle 2; $(Cl^-) = 0{,}844$, $(H^+)_m = 0{,}68$), die in Hinblick auf Zinnchlorür bereits in Tabelle 1, Abb. 1, Verwertung gefunden hat, läßt in der Tat einen solchen Zusammenhang vermuten:

Tabelle 2.
$(Cl^-) = 0{,}844$.

$(SnCl_2)$ Mol/l c	$10^4 \cdot v$ Mol/l; Min.$^{-1}$	(HCl)	$(HCl)_m$	$10^4 \cdot$ λc	ϱ	$(\varrho)_m$	v rückgerechnet
		Mol/l		Mol/l; Min.$^{-1}$			
0,11	2,62	0,623	0,68	0,95	1,67	1,69	—
0,10	2,54	0,643		0,86	1,68		—
0,09	2,46	0,663		0,78	1,68		—
0,08	2,36	0,683		0,69	1,67		—
0,07	2,28	0,703		0,605	1,67		—
0,06	2,23	0,723		0,52	1,71		—
0,05	2,15	0,745		0,433	1,72		—
0,04	2,04	0,766		0,346	1,69		2,04
0,03	1,86	0,785		0,26	1,60		1,95
0,02	1,64	0,805		0,173	1,47		1,86
0,01[12]	1,28	0,823		0,086	1,19		(1,78)

Zerfällung der Reaktionsgeschwindigkeit in zwei Terme, deren erster konstant ($= \varrho$) ist, während der zweite sich proportional (λ) der $(SnCl_2)$-Konzentration (c) erweist[13]:

$$v = \varrho + \lambda c,$$

[12] Man beachte, daß einer Konzentrationsveränderung im Verhältnisse 1 : 11 eine Geschwindigkeitsveränderung im Verhältnisse von nur 1 : 2 entspricht, ein Sachverhalt, der natürlich nur ein anderer Ausdruck für die hier obwaltenden Verhältnisse ist.

[13] Diese — annähernde — Proportionalität scheint darauf hinzuweisen, daß innerhalb des Versuchsbereiches trotz der sehr erheblichen $(SnCl_2)$-Variation eine maßgebliche Veränderung der $SnCl_2$-„Konfiguration" nicht

wobei bei der den Versuchen Tabelle 2 zugeordneten Substratzusammensetzung:

$\varrho = 1{,}69 \cdot 10^{-4}$ (Mol/l; Min.$^{-1}$; 30° C); $\lambda = 8{,}65 \cdot 10^{-4}$ (Min.$^{-1}$; 30° C).

In Hinblick auf solchen Geschwindigkeitsverlauf wird man im Sinne der aufgeworfenen Fragestellung wohl kaum in der Annahme fehlgehen, daß *in ϱ der (Sn^{2+})-unabhängige Anteil der Autoxydationsgeschwindigkeit* zum Ausdruck kommt, der der — (Sn^{2+})-unabhängigen — *Chlorionkatalyse der Autoxydation* entspricht.

Daß diese Katalyse proportional der *Chlorion*-Konzentration ist, kann wohl von vornherein erwartet werden[14]; was anderseits den *H^+-Ion*-Einfluß betrifft, so scheint das vorliegende experimentelle Material — wieder unter Versuchsverhältnissen, die vorzugsweise bloß den Betrag von ϱ zu beeinflussen vermögen, — dahin diskutiert werden zu können, daß *die Autoxydationsgeschwindigkeit um so ausgeprägter H^+-Ion-abhängig* ist, *je geringer die Azidität* ist, derart, daß mit Anstieg der letzteren diese Abhängigkeit in wachsendem Ausmaß zurücktritt[15]. Dieser Tatbestand, zusammengehalten mit der Cl^--Ion-Funktion, läßt vermuten, daß dem Zusammenhang zwischen ϱ, (H^+) und (Cl^-) die Form

$$\varrho = \varkappa_1 (Cl^-) \frac{(H^+)}{1 + \varkappa_2 (H^+)}$$

zukommt, wobei die Koeffizienten $\varkappa_1$ und $\varkappa_2$ einerseits aus der der Tabelle 2 zu entnehmenden Beziehung

$$\varrho = 1{,}69 \cdot 10^{-4} = \varkappa_1 \, 0{,}844 \, \frac{0{,}68}{1 + \varkappa_2 \, 0{,}68}$$

zu bestimmen sind, anderseits etwa aus dem experimentellen Befund[16]:

---

stattfindet, was in Hinblick auf den großen Überschuß an Cl^-- und H^+-Ionen gewiß nicht auffallend ist. Anderseits unterstützt dieses Verhalten die Annahme des Vorliegens eines zinnsalzunabhängigen Geschwindigkeitsanteiles.

[14] Zwei von den Verfassern im Wege des Zusatzes von KCl bzw. von HCl bis zu einer Cl^--Konzentration von 3,0 m bzw. 7,0 m durchgeführte — der hier angegebenen Berechnung allerdings nicht zugängliche — Versuchsreihen (siehe Anm. 13 und 15) weisen auf einen sehr erheblichen Einfluß von Cl^--Ion hin, so daß mir in Zusammenhalt mit den hierbei vorliegenden Versuchsbedingungen auch von dieser Seite her die Deutung des Bestandes einer Cl^--Ion-Katalyse nahegerückt erscheint.

[15] Bei außerordentlichem Überschuß an HCl (l. c., S. 141, Tabelle VI) steigt die Geschwindigkeit ungefähr proportional der *Gesamt*konzentration von HCl an, so daß offenbar bloß Cl^--Ion-, nicht aber auch H^+-Ion-Einfluß vorliegt (siehe die vorausgehende Anmerkung).

[16] L. c., S. 138, Tabelle I, Serie E. Die Auswahl unter den experimentellen Daten ist so getroffen, daß der H^+-Ion-Effekt deutlich in Erscheinung tritt, ohne daß eventuelle kleine Versuchsungenauigkeiten allzu sehr hervorzutreten vermögen.

$(Sn^{2+}) = 0{,}04$; $(Cl^-) = 0{,}844$; $(H^+) = 0{,}180$; $v = 0{,}944 \cdot 10^{-4}$

$$0{,}944 \cdot 10^{-4} = \varkappa_1 \, 0{,}844 \, \frac{0{,}180}{1 + \varkappa_2 \, 0{,}180} + 8{,}65 \cdot 10^{-4} \cdot 0{,}04;$$

mit den sich aus diesen beiden Gleichungen ergebenden Werten

$\varkappa_1 = 4{,}47 \cdot 10^{-4}$ [(Mol/l)$^{-1}$; Min.$^{-1}$; 30° C]; $\varkappa_2 = 0{,}76$ [(Mol/l)$^{-1}$; 30° C]

sind die Autoxydationsgeschwindigkeiten

$$v \cdot 10^{+4} = 4{,}47 \, (Cl^-) \, \frac{(H^+)}{1 + 0{,}76 \, (H^+)} + 8{,}65 \, c$$

einer Versuchsreihe berechnet (Tabelle 3), die von *Lachman* und *Tompkin* unter gleicher Variation der $SnCl_2$-Konzentration wie ad Tabelle 2 aber unter variabler H^+-Konzentration durchgeführt wurde[17]. Die Über

Tabelle 3.
$(Cl^-) = 0{,}844$.

$(SnCl_2)$ Mol/l	(H^+) Mol/l	$10^4 v$ Mol/l; Min.$^{-1}$	
		gefunden	berechnet
0,11	0,496	2,48	2,30
0,10	0,451	2,22	2,14
0,09	0,406	1,99	1,96
0,08	0,361	1,76	1,86
0,07	0,316	1,53	1,56
0,06	0,271	1,34	1,37
0,05	0,226	1,15	1,16
0,04	0,180	0,945	(0,945)
0,03	0,135	0,72	0,73
0,02	0,090	0,50	0,495
0,01	0,045	0,266	0,25

einstimmung zwischen den gefundenen und den berechneten Werten dar wohl, bei einer Variation des $SnCl_2$-Gehaltes im Verhältnis 1 : 11, de H^+-Ion-(HCl-)Gehaltes 1 : 11, der Reaktionsgeschwindigkeit 1 : 9, al eine vorzügliche bezeichnet werden.

Ähnliche Übereinstimmung ist bei festgehaltener H^+- und *variierte* Cl^--Konzentration *nicht* vorhanden[18]; naheliegenderweise geht in Gebiete nicht allzu hohen Cl^--Gehaltes seiner Veränderung, im Gegen satz zu der von H^+-Ion, erheblich Geschwindigkeit beeinflussende Wechsel der Sn^{2+}-Cl^--Dissoziations- und Komplexverhältnisse paralle der sich in beiden Summanden der aufgestellten Geschwindigkeits

[17] L. c., S. 138, Tabelle I, Serie E; die Zahlen weisen in der 5. Kol. zwe Druckfehler auf, wie an Hand der Tabelle V, S. 140, zu ersehen ist.

[18] Gleiches gilt in Gegenwart von HCl plus $HClO_3$ (l. c., S. 141, Tabelle VII

beziehung notwendig sehr empfindlich auswirken wird. Analoge Versuche wie ad Tabellen 1 bis 3, aber bei festgehaltener H^+- und variierter Cl^--Konzentration, liegen leider nicht vor.

Zusammenfassend[19] kann gesagt werden, daß trotz *starken Hinweises auf Chlorionkatalyse in chlorionhaltigen, der Autoxydation unterworfenen Systemen* das vorliegende Versuchsmaterial dennoch *nicht hinreichend* ist, um die im Titel gestellte Frage zur Zeit *völlig zweifelsfrei* beantworten zu können. Jedenfalls aber scheint es von Interesse, zu versuchen, dem *Mechanismus* nachzugehen, der zu der die Chlorionkatalyse betreffenden Formulierung von ϱ führen könnte; der

Mechanismus der Chlorionkatalyse bei Autoxydation

ist naturgemäß identisch mit dem

Mechanismus der Autoxydation von Chlorion

unter der Voraussetzung hinreichend schneller Wegfangung des Oxydationsproduktes Chlor durch das sich autoxydierende Substrat X.

$$\bar{\varkappa}_1^{20};\quad O_2 + Cl^- \rightleftarrows \bar{O}\cdot O\cdot Cl;\quad \bar{\varkappa}_1'^{21}$$

$$\bar{\varkappa}_2;\quad \bar{O}\cdot O\cdot Cl + H^+ \rightarrow Cl^+ + OH + O^- \;(Cl^+ + HO_2^-)^{22,\,23}$$

$$O^- + H^+ \rightleftharpoons OH$$

$$Cl^+ + X \rightarrow X^+ + Cl^{24}$$

$$Cl + X \rightarrow X^+ + Cl^-$$

$$2\,(OH + X \rightarrow X^+ + OH^-)$$

---

[19] Bei dieser Gelegenheit seien einige Unebenheiten in den beiden zitierten Publikationen richtiggestellt. Zu der $TiCl_3$-Arbeit teilt mir Dr. *Mackenzie* freundlicherweise mit, daß die Zahlen der letzten Reihe in Tabelle III (l. c., S. 496) mit 0,715 zu multiplizieren seien; dies ändert entsprechend auch Tabelle IV (S. 470), die aber auch sonst entstellt zu sein scheint. In der $SnCl_2$-Arbeit muß es S. 135, Serie A, B, C statt $SnCl_2$ — 0,711 M jedesmal $SnCl_2$ — 0,0711 M heißen; außerdem ist an gleicher Stelle 0,45 durch 4,5 zu ersetzen (siehe Tabellen I und V, S. 138 und 140). Der Zusatz „[total]" am Kopf der Tabellen III und VII (S. 140 und 141) ist zu streichen, Korrekturen, denen Dr. *C. F. Tompkins* zugestimmt hat.

[20] Die $\varkappa$'s seien die bezüglichen Geschwindigkeitskoeffizienten.

[21] Es wird der von mir jüngst [Mh. Chem. 85, 722 (1954)] entwickelte Mechanismus der Autoxydation auch für den vorliegenden Fall zugrunde gelegt.

[22] Die geschwindigkeitbestimmende Reaktion ist unterstrichen.

[23] Spuren von Peroxyd konnten bei der Sn^{2+}-Autoxydation nachgewiesen werden; siehe den in Anm. 2 enthaltenen Hinweis auf die Literatur.

[24] Ist $X = Sn^{2+}$, so lauten diese — unvermeidlicherweise nicht ohne Willkür zu formulierenden — „unendlich schnellen" Reaktionslinien etwa

$$2\,(OH^- + H^+ \rightleftharpoons H_2O)$$

$$O_2 + 4\,X + 4\,H^+ \rightarrow 4\,X^+ + 2\,H_2O,$$

ein Mechanismus, der für die

Kinetik der Chlorionkatalyse bei Autoxydation

zu der Formulierung führt:

$$v_{Cl^-} = \bar{\varkappa}_2\,[\overline{O}\cdot O\cdot Cl]\,[H^+],$$

$$[\overline{O}\cdot O\cdot Cl] = \frac{\bar{\varkappa}_1\,p_{O_2}\,[Cl^-]}{\bar{\varkappa}_1' + \bar{\varkappa}_2\,[H^+]}$$

$$v_{Cl^-} = \bar{\varkappa}_1\,\bar{\varkappa}_2\,p_{O_2}\,[Cl^-]\,\frac{]H^+]}{\bar{\varkappa}_1' + \bar{\varkappa}_2\,[H^+]} = \varkappa_1\,[Cl^-]\,\frac{[H^+]}{1 + \varkappa_2\,[H^+]},$$

identisch mit dem Sn^{2+}-unabhängigen Geschwindigkeitsanteil ϱ der Autoxydation von Zinnchlorür.

---

im Falle zwischengebildeten und sich praktisch nicht anreichernden Wasserstoffsuperoxyds:

$$Cl^+ + Sn^{2+} \rightarrow Sn^{3+}* + Cl \rightarrow Sn^{4+} + Cl^-,$$

$$H_2O_2 + Sn^{2+} \rightarrow Sn^{3+} + OH^- + OH \rightarrow Sn^{4+} + 2\,OH^-.$$

* Auf eine Arbeit von *T. R. Ball, W. Wulf Kuehler* und *R. E. Wingard* über Zwischenstufen bei Oxydation von $SnCl_2$ [J. Amer. Chem. Soc. 57, 1729 (1935)] sei verwiesen.

Konstitutionsermittlung von Peptiden VII. Die gleichzeitige Bestimmung der amino- und carboxylendständigen Aminosäure mittels Hydrazins[1].

XII. Mitteilung über Peptide[2].

Von

K. Schlögl, F. Wessely und **E. Wawersich.**

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 22. März 1954.)

Bei der energischen Hydrazinbehandlung von N-Carbobenzoxypeptiden tritt Spaltung aller Peptidbindungen unter Bildung von Aminosäure-hydraziden (III) ein, während die carboxylendständige Aminosäure unverändert bleibt und aus der aminoendständigen ein Dihydrazid (II) einer α-Amino-N-carbonsäure gebildet wird. Diese Reaktion konnte zur gleichzeitigen Bestimmung der beiden an den Enden eines Peptides vorliegenden Aminosäuren herangezogen werden, da sich, wie schon früher gezeigt wurde[3,4], die Dihydrazide leicht in 3-Aminohydantoine (IV) überführen lassen, die dann von den Aminosäuren und ihren Hydraziden glatt abtrennbar sind und anschließend papierchromatographisch getrennt und identifiziert werden können.

Dieses Verfahren, das sich auch vorteilhaft mit einem früher beschriebenen Peptidabbau[5–9] kombinieren läßt, wurde sowohl präparativ als auch im Mikromaßstab an 5 Dipeptiden, 5 Tripeptiden und dem krist. Enzym Lysozym erprobt.

---

[1] Vorläufige Mitteilung: *K. Schlögl* und *E. Wawersich*, Naturwiss. **41**, 38 1954).

[2] XI. Mittlg.: *K. Schlögl* und *H. Fabitschowitz*, Mh. Chem. **84**, 937 (1953).

[3] *K. Schlögl* und *G. Korger*, Mh. Chem. **82**, 799 (1951).

[4] *K. Schlögl, J. Derkosch* und *E. Wawersich*, Mh. Chem. **85**, 607 (1954).

[5] *F. Wessely, K. Schlögl* und *G. Korger*, Mh. Chem. **83**, 1156 (1952).

[6] *F. Wessely, K. Schlögl* und *E. Wawersich*, Mh. Chem. **83**, 1426 (1952).

[7] Dieselben, Mh. Chem. **83**, 1439 (1952).

[8] *K. Schlögl, A. Siegel* und *F. Wessely*, Z. physiol. Chem. **291**, 265 (1952).

[9] *F. Wessely, K. Schlögl* und *E. Wawersich*, Mh. Chem. **84**, 263 (1953).

1952 hatten *S. Akabori, Ko Ohno* und *K. Narita*[10] ein Verfahren zur Bestimmung der carboxylendständigen Aminosäure (C-AS) in Peptiden angegeben, das darauf beruht, daß bei energischer Hydrazinbehandlung von Peptiden aus allen Aminosäuren bis auf die C-endständige, die unverändert bleibt, Aminosäure-hydrazide (III) gebildet werden. Werden dann diese Hydrazide mit Benzaldehyd als unlösliche Benzalverbindungen entfernt, so scheint in einem Papierchromatogramm nur mehr die C-AS auf. Kürzlich hat *K. Ohno*[11] die Methode dahingehend modifiziert, daß er das Reaktionsgemisch mit Dinitrofluorbenzol umsetzt und dabei aus den Hydraziden (III) Di-DNP-Verbindungen erhält, die als neutrale Substanzen von der aus der C-AS erhaltenen sauren DNP-Aminosäure abtrennbar sind. Das Verfahren hat sich auch bereits bei Proteinen bewährt und scheint allen übrigen chem. Methoden zur Bestimmung der C-AS, bei denen die freie COOH-Gruppe durch mehr oder weniger umständliche Reaktionen blockiert werden muß[12], überlegen zu sein.

Wir hatten anderseits 1951 die Beobachtung gemacht, daß bei der Hydrazinolyse von N-Cbzo-Aminosäure-estern Dihydrazide der Struktur II entstehen, die beim Erhitzen ihrer wäßr. Lösung unter Hydrazinabspaltung Ringschluß erleiden[3]. Die Konstitution der dabei erhaltenen Verbindungen wurde kürzlich[4] einer eingehenderen Prüfung unterzogen. Aus den meisten Reaktionen ließ sich mit großer Wahrscheinlichkeit die Formulierung als Aminohydantoin (IV) ableiten. Solche Aminohydantoine wurden bisher von 10 α-Aminosäuren dargestellt[3,4].

Diese Umsetzung schien uns, vor allem da sie auch auf N-Cbzo-Peptide übertragbar war, sehr zur Abspaltung der aminoendständigen Aminosäure (N-AS) eines Peptides geeignet und mußte es zusammen mit dem eingangs erwähnten Verfahren ermöglichen, in einem Peptid in einem einfachen Arbeitsgang beide an den Enden befindlichen Aminosäuren, also die N- und die C-AS, zu ermitteln.

In Kombination mit der früher beschriebenen Möglichkeit[5–9] zur Abspaltung der N-AS und der ihr benachbarten als substituierte Hydantoin-3-essigsäure, bei der sich aber die Reihenfolge der beiden am Aminoende des Peptides befindlichen Aminosäuren nur in wenigen Fällen feststellen ließ[7], ist es jetzt möglich, die Lage von drei Aminosäuren im Peptidverband festzulegen, woraus sich bei niederen Peptiden meist schon die volle Aminosäuresequenz ergibt.

Im folgenden Schema ist die gleichzeitige Bestimmung der N-AS und der C-AS in einem Tripeptid mittels Hydrazins formelmäßig dargestellt. An Hand dieses Abbauschemas sollen die einzelnen Stufen und die sich daraus ergebenden Probleme und experimentellen Tatsachen etwas näher besprochen werden.

---

[10] Bull. Chem. Soc. Japan **25**, 214 (1952).

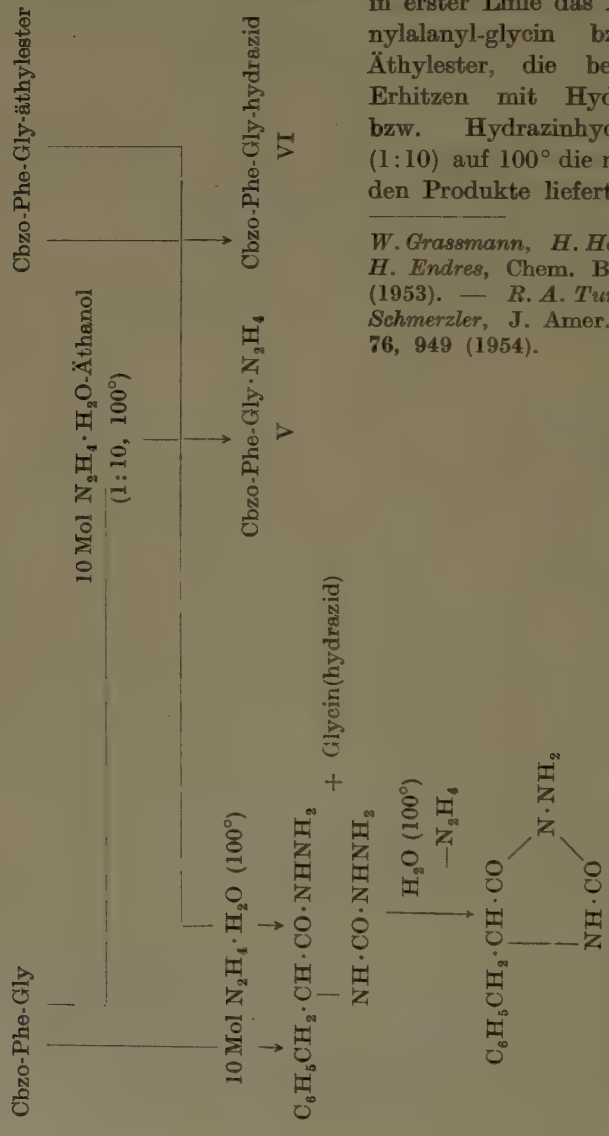
[11] J. Biochem. (Japan) **40**, 621 (1953).

[12] *K. Schlögl*, Österr. Chem.-Ztg. **54**, 8 (1953). — *R. A. Boissonas*, Helv. Chim. Acta **35**, 2226 (1952). — *J. L. Bailey*, Biochem. J. **52**, IV (1952). — *G. W. Kenner, H. G. Khorana* und *R. J. Stedman*, J. Chem. Soc. London **1953**, 673. — *Th. Wieland* und *H. Fritz*, Chem. Ber. **86**, 1186 (1953). —

R1 R2 R3
NH·CH·CO·NH·CH·CO·NH·CH·COOH
CO·OCH2C6H5
I
(1) Hydrazin
R1 R2 R3
NH·CH·CO·NHNH2 + NH2·CH·CO·NHNH2 + NH2·CH·COOH
CO·NHNH2
II III C-AS
(2)
Benzal-dehyd (Aceton)
unverändert
Benzal-
(Isopropyliden)-
Verbindung
(3) H2O (100°) —N2H4
H2O (100°)
unverändert
H2O (100°)
unverändert
R1·CH·CO
NH·CO
N·NH2
IV
Hydrolyse
(3)
R1·CH·COOH
NH2

1. Hydrazinolyse.

Wird ein Cbzo-Peptid (I) mit Hydrazin(hydrat) erhitzt, so tritt, wie schon erwähnt, Spaltung der Peptidbindungen unter Bildung von Aminosäurehydraziden (III) und des Dihydrazides (II) ein, während die C-AS weitgehend unverändert bleibt. Da also die Hydrazinspaltung die Schlüsselreaktion des Abbaues vorstellt, schien es vor allem wesentlich, die optimalen Spaltungsbedingungen festzustellen. Dazu wählten wir in erster Linie das N-Cbzo-Phenylalanyl-glycin bzw. dessen Äthylester, die beim 5stünd. Erhitzen mit Hydrazinhydrat bzw. Hydrazinhydrat-Äthanol (1:10) auf 100° die nebenstehenden Produkte lieferten.



W. Grassmann, H. Hörmann und *H. Endres*, Chem. Ber. **86**, 1477 (1953). — *R. A. Turner* und *G. Schmerzler*, J. Amer. Chem. Soc. **76**, 949 (1954).

Das Hydrazinsalz des Cbzo-Phe-Gly (V) und das Cbzo-Phe-Gly-hydrazid (VI) wurden aus dem Cbzo-Peptid bzw. seinem Ester auch durch Umsatz mit geringem Hydrazinüberschuß bei Zimmertemp. erhalten. Bemerkenswert ist, daß die Behandlung mit dem Äthanol-Hydrazin-Gemisch beim Cbzo-Peptid noch nicht zur Sprengung der Peptidbindung geführt und auch die Cbzo-Gruppe noch unversehrt gelassen hatte, während Umsetzung der Cbzo-Aminosäureester unter gleichen Bedingungen bereits unter Eliminierung der Cbzo-Gruppe zur Bildung der Dihydrazide (II) führt[3].

Nachdem auf diese Weise präparativ auch aus Cbzo-Peptiden die Bildung von Dihydraziden bewiesen war, aus denen dann durch Wasserverkochung die Aminohydantoine erhalten werden können, sollten die folgenden papierchromatographischen Untersuchungen eines mit Hydrazin unter verschiedenen Bedingungen behandelten Dipeptides die optimalen Bedingungen zur völligen Sprengung der Peptidbindung aufzeigen. Dafür wählten wir das Peptid Glycyl-Phenylalanin, das auf vier verschiedene Arten (100° bzw. Kochen mit Hydrazinhydrat bzw. wasserfreiem Hydrazin) der Hydrazinolyse unterworfen wurde. Nach den in der Tabelle 1 angegebenen Zeiten wurden gleiche Mengen papierchromatographiert, mit Ninhydrin auf noch vorhandenes Peptid bzw. abgespaltene C-Aminosäure und mit ammoniakal. $AgNO_3$-Lösung auf Hydrazide in getrennten Chromatogrammen geprüft. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 1.

Es traten dabei, wie aus der Tabelle 1 hervorgeht, nach einiger Zeit auch steigende Mengen von Phenylalanin-hydrazid auf, was auf die Umsetzung der freien COOH-Gruppe des Peptides zum Hydrazid schließen ließ. Da aber einerseits mit der Möglichkeit der Bildung des Diketopiperazins zu rechnen war, das dann auch Hydrazinolyse zum Phenylalanin-hydrazid erleiden konnte, anderseits aber die japanischen Autoren angegeben hatten[10], daß z. B. beim Gly-Leu auch nach 10stünd. Kochen mit wasserfreiem Hydrazin noch keine Umsetzung der COOH-Gruppe eingetreten sein sollte, behandelten wir auch Phenylalanin unter denselben Bedingungen wie das Peptid mit Hydrazin. Wie aus den Ergebnissen, die ebenfalls in Tabelle 1 enthalten sind, eindeutig hervorgeht, treten bei zunehmender Dauer steigende Mengen von Phe-Hydrazid auf und es ist somit nicht anzunehmen, daß Gly-Leu noch nach 10 Stdn. völlig unverändert vorliegen sollte. Überdies stellte auch *Ohno* kürzlich fest[11], daß Leucin nach 10stünd. Hydrazinolyse nur mehr zu 66% wiederzugewinnen war. Auch dieses Ergebnis läßt sich nach obigen Befunden ohne weiteres durch partielle Umsetzung zum Leucin-hydrazid interpretieren.

Nach all dem wählten wir als optimale Bedingungen für den Abbau von N-Cbzo-Peptiden 4- bis 6stünd. Erhitzen mit Hydrazinhydrat (bzw. wasserfreiem Hydrazin) im siedenden Wasserbad.

Tabelle 1. Hydrazinolyse von Gly-Phe und Phe mit Hydrazinhydrat bzw. wasserfreiem Hydrazin [in ()] unter verschiedenen Bedingungen. Papierchromatographie absteigend auf SS 2043a, Lösungsmittel: n-Butanol-Äthanol-NH_3-H_2O (4:4:1:1). R_F-Werte: Gly-Phe (0,32), Phe (0,45), Gly-hydrazid (0,17) und Phe-hydrazid (0,63). Die ungefähre Stärke der Flecken ist durch — nichts, + wenig, ++ stark, +++ sehr stark wiedergegeben.

Zeit in Stdn.	bei 100°						Kochen				
	aus	Glycyl-phenylalanin				Phe	Glycyl-phenylalanin				Phe
	nachgewiesen	Gly-Phe	Phe	Gly-hydr.	Phe-hydr.	Phe-hydr.	Gly-Phe	Phe	Gly-hydr.	Phe-hydr.	Phe-hydr.
0,5		++	+	+	—	—	+	++	++	—	—
		(++)	(+)	(+)	(—)	(—)	(+)	(++)	(++)	(—)	(—)
1		++	+	+	—	—	+	+++	++	—	+
		(+)	(+)	(+)	(—)	(—)	(—)	(++)	(+++)	(++)	(++)
2		+	++	++	—	—	—	+++	+++	+	++
		(+)	(++)	(+++)	(—)	(—)	(—)	(++)	(+++)	(+++)	(+++)
5		—	++	++	—	++	—	++	+++	+++	+++
		(—)	(++)	(+++)	(+)	(++)	(—)	(++)	(+++)	(+++)	(+++)
9		—	+++	+++	+	++	—	+	+++	+++	+++
		(—)	(+++)	(+++)	(++)	(+++)	(—)	(+)	(+++)	(+++)	(+++)
24		—	++	+++	+++	+++					
		(—)	(++)	(+++)	(+++)	(+++)					

2. Bestimmung der carboxylendständigen Aminosäure (C-AS).

Diese Bestimmung erfolgt im allgemeinen nach den Angaben der jap. Autoren[10]. Es werden also in einem Teil des mit Hydrazin erhaltenen Reaktionsproduktes nach Entfernung von überschüssigem Hydrazin durch Umsetzung mit Benzaldehyd oder Kochen mit Aceton die vorliegenden Hydrazide und Dihydrazide blockiert und in der erhaltenen Lösung kann nach Entfernung der unlöslichen Dibenzalverbindungen (die bei Umsatz in alkalischem Medium entstehen) die C-AS papierchromatographisch ermittelt werden. Auch die Umsetzung mit DNFB nach *Ohno*[11] läßt sich zur Abtrennung der Hydrazide und Dihydrazide heranziehen. Bei einfacheren Peptiden wird aber zweckmäßig das Reaktionsgemisch ohne vorherige Umsetzung direkt papierchromatographisch auf die C-AS geprüft, da ja die freien Aminosäuren infolge ihrer wesentlich stärkeren Farbreaktion mit Ninhydrin von den Hydraziden leicht unterschieden werden können.

3. Bestimmung der aminoendständigen Aminosäure (N-AS).

Nachdem nun in einem Teil des hydrazinbehandelten Cbzo-Peptides die C-AS bestimmt ist, wird der Rest in Wasser gelöst und die wäßr. Lösung 10 bis 20 Min. zum Sieden erhitzt, wobei das vorliegende Dihydrazid, das aus der N-AS stammt, Ringschluß zum 3-Amino-hydantoin (IV) erleidet. Dieses bildet mit Säuren kein Salz[3,4] und kann daher aus der angesäuerten Lösung glatt mit Äther extrahiert und somit von den unverändert gebliebenen Aminosäure-hydraziden (III) und der C-AS abgetrennt werden.

Als letzter Schritt bleibt also nur mehr die Identifizierung der Aminohydantoine und damit die Bestimmung der N-AS, die zweifach ausgeführt werden kann:

a) Es können die extrahierten Aminohydantoine mit HCl unter energischen Bedingungen (140°, 4 bis 5 Stdn.) hydrolysiert und die dabei in Freiheit gesetzten, ihnen zugrunde liegenden Aminosäuren papierchromatographisch identifiziert werden. Aus allen in der Tabelle 2 angeführten Hydantoinen (IV) erhält man bei dieser Hydrolyse ausschließlich die entsprechenden Aminosäuren.

b) Es lassen sich die Aminohydantoine als solche am Papier mit Ammoniak enthaltenden Lösungsmittelgemischen befriedigend trennen. Die R_F-Werte sind in der Tabelle 2 angeführt.

Der Nachweis kann in sehr empfindlicher Weise durch Besprühen mit 0,1 n NaOH, Trocknen im Trockenschrank bei 50 bis 70° (etwa 10 Min.) und erneutes Besprühen mit ammoniakal. Silbernitratlösung (zirka 0,1 n) erfolgen, worauf die Aminohydantoine nach gelindem Erwärmen in Mengen bis etwa 3 μg (Ala-Derivat) bzw. 5 μg (Phe-Derivat) noch deutlich sichtbar sind. Nur das ε-Cbzo-Lys-Derivat ist erst in etwas größerer Menge (15 bis

20 μg) nachzuweisen. Anschließend können die Chromatogramme dann durch Waschen mit 5%iger Natriumthiosulfatlösung und Wasser haltbar gemacht werden.

Der Nachweis der Aminohydantoine beruht darauf, daß bei der Behandlung mit Lauge sehr leicht Ringöffnung zu den Hydrazidsäuren (VII) eintritt[4], die zum Unterschied von den Hydantoinen (IV) ammoniakal. $AgNO_3$-Lösung glatt reduzieren.

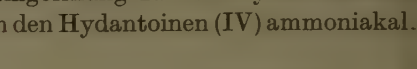


Tabelle 2. R_F-Werte der Aminohydantoine (IV). Papier: Schleicher-Schüll 2043a. Absteigend. Lösungsmittel A: n-Butanol - Äthanol - konz. NH_3-H_2O (4:4:1:1), B: Isoamylalkohol-konz. NH_3-H_2O (6:3:1).

Aminohydantoin von[3, 4]	Lösungsmittel	
	A	B
Glutaminsäure	0,10	0,00
Alanin	0,43	0,11
C-Phenyl-glycin	0,50	0,20
Tyrosin	0,52	0,17
Methionin	0,65	0,35
Tryptophan	0,65	0,50
Valin	0,68	0,45
Phenylalanin	0,71	0,54
Leucin	0,75	0,69
ε-Cbzo-Lysin	0,79	0,73

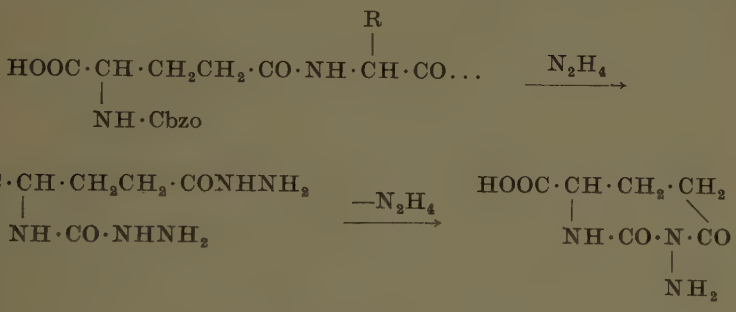
Am besten zur Identifizierung der N-AS hat sich jedoch eine Kombination der beiden erwähnten Nachweismöglichkeiten bewährt: Dazu werden die extrahierten Aminohydantoine primär am Papier chromatographiert, dadurch völlig rein erhalten, dann aus einem Parallelchromatogramm — ähnlich wie früher für Hydantoin-3-essigsäuren beschrieben[8] — eluiert, in Kapillaren mit HCl hydrolysiert und erneut, diesmal als Aminosäuren, chromatographiert. Damit ist eine doppelte und daher weitgehend sichere Identifizierung der N-AS gegeben. Überdies läßt sich dadurch der Substanzbedarf, da es sich ja auch bei allen Stufen um sehr leicht auszuführende Reaktionen handelt, auf ein Minimum beschränken und man kann daher mit kleinen Peptidmengen das Auslangen finden. So konnten wir z. B. den Abbau von Cbzo-Phe-Gly noch mit 5 mg ohne Schwierigkeiten ausführen, ohne daß diese Menge jedoch eine untere Grenze darstellt.

4. Grenzen der Methode.

Bei der Bestimmung von allen in der Tabelle 2 angeführten Aminosäuren am Aminoende eines Peptides treten keine Schwierigkeiten auf. Wie früher gezeigt[4], ist ja z. B. die ε-Cbzo-Gruppe des Lysins gegen Hydrazin weitgehend stabil und es fällt daher das Aminohydantoin-Derivat des Lysins mit dem Rest R = Cbzo · NH · $(CH_2)_4$— an, wodurch sich Lysylpeptide glatt bestimmen lassen.

In α-Glutamylpeptiden wird die freie γ-COOH-Gruppe der Glutamin-

säure weitgehend in das Hydrazid übergeführt[4] und liegt dann in nicht extrahierbarer Form vor. Dennoch bleibt noch so viel von der Carboxylgruppe unverändert, daß auch Glutaminsäure am Aminoende ohne wesentliche Schwierigkeiten bestimmbar ist. Bei γ-Glutamylpeptiden hingegen versagt die Methode analog wie beim Hydantoin-3-essigsäure-Verfahren[9], da sich ja auch hier wieder beim Ringschluß der Dihydrazide ein 7er Ring ausbilden müßte.

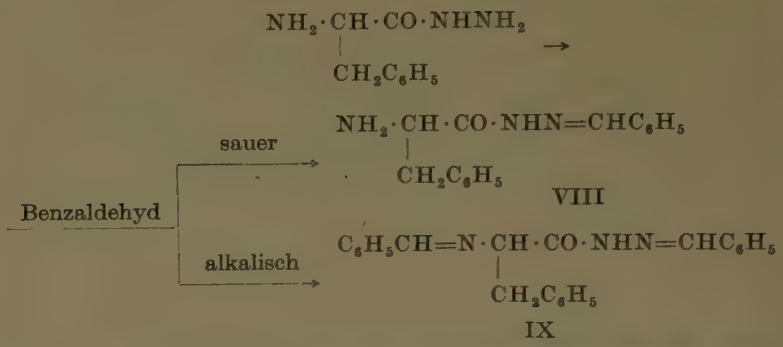


Von den bisher untersuchten Aminosäuren treten jedoch Komplikationen beim Glycin, Serin und Cystin (Cystein) auf, sofern sie am Aminoende vorliegen. Die Dihydrazide des Glycins und Serins (II, $R_1 = H$ bzw. CH_2OH) geben nämlich beim Erhitzen der wäßr. Lösung keinen Ringschluß[3,4] und daher keine ätherextrahierbare Substanz mehr. Im Fall von Glycylpeptiden kann diese Schwierigkeit, wenn auch etwas umständlich, auf folgende Weise umgangen werden: Nach Hydrazinbehandlung des Cbzo-Peptides wird das Gemisch aus dem Dihydrazid der Glycin-N-carbonsäure (II, $R_1 = H$) und den Aminosäurehydraziden (III) mit Benzaldehyd in *saurer* Lösung umgesetzt, wobei aus den Hydraziden (III) nur die Monobenzalverbindungen [zum Unterschied vom alkalischen Medium, wo die Dibenzalverbindungen entstehen, wie wir beim Phenylalaninhydrazid zeigen konnten (VIII, IX)], aus dem Glycin-dihydrazid aber die Dibenzalverbindung[3] entsteht. Diese kann aus saurer Lösung von den Monobenzalverbindungen, die noch eine freie Aminogruppe besitzen, abgetrennt werden und liefert nach energischer Hydrolyse die endständige Aminosäure Glycin.

Beim Serin aber versagte diese Modifikation, da die Dibenzalverbindung des Serin-dihydrazides (II, $R_1 = CH_2OH$) nach Hydrolyse keinen Fleck im Papierchromatogramm mehr ergab. Serin selbst lag nach HCl-Behandlung unter analogen Bedingungen (140°, 5 Stdn.) zum größten Teil als Alanin vor[13].

---

[13] *K. Heyns* und *W. Walter*, Naturwiss. **39**, 507 (1952); Z. physiol. Chem. **294**, 111 (1954). — *V. M. Ingram*, J. Chem. Soc. London **1953**, 3717.



Beim Cystin endlich traten *die* Schwierigkeiten auf, die schon in der früheren Mitteilung[4] eingehender besprochen wurden. Da aus dem Di-Cbzo-Cystin-dimethylester weder nach direkter energischer Hydrazinbehandlung und nachfolgender Wasserverkochung, noch nach vorhergehender Oxydation mit Perameisensäure zum Cysteinsäurederivat definierte extrahierbare Produkte erhalten werden konnten, versagt die Methode also bei Peptiden mit Cystin als N-AS.

Nach dem bisherigen Stand der Untersuchungen kann also aus dem Fehlen eines ätherextrahierbaren Aminohydantoins nach normalem Abbau auf das Vorliegen von Glycin, Serin oder Cystin am Aminoende geschlossen werden.

Das Verfahren zur Bestimmung der amino- und carboxylendständigen Aminosäuren wurde in der beschriebenen Form an den Peptiden[14]: Phe-Gly, Gly-Tyr, Ala-Gly, Glu-Gly, Val-Gly-Gly, Ala-Leu-Gly und Gly-Ala-Gly im präparativen Maßstab unter Identifizierung der aus den N-AS erhaltenen Aminohydantoine (Mischschmp.) und an den Peptiden Phe-Gly, Lys-Val, Glu-Gly, Leu-Gly-Gly und Leu-Gly-Phe im Mikromaßstab erprobt und lieferte in allen Fällen eindeutige Ergebnisse.

Daß diese Methode prinzipiell nicht nur auf niedrige Peptide beschränkt ist, konnten wir im Fall des krist. Enzyms Lysozym vom Molgewicht 14900 zeigen, bei dem wir in Übereinstimmung mit den von anderen Autoren erhobenen Befunden als N-AS Lysin[15] und als C-AS Leucin[11,16] fanden.

5. Kombination mit dem Hydantoin-3-essigsäure-Abbau.

Wie eingangs schon erwähnt, kann das vorliegende Verfahren mit einer früher beschriebenen Methode zum Peptidabbau[5–9,2], die ebenfalls

[14] Für die Überlassung von Peptiden sind wir Herrn Prof. Dr. *F. Mietzsch*, Bayerwerke Elberfeld, und der Fa. Hoffmann-La Roche, Basel, zu großem Dank verpflichtet.

[15] *W. A. Schröder*, J. Amer. Chem. Soc. **74**, 5118 (1952).

[16] *A. R. Thompson*, Nature **169**, 495 (1952).

ihren Ausgang von den N-Carbalkoxy(Carbobenzoxy-)peptiden nimmt, kombiniert werden und liefert in dieser Form Aufschluß über die Lage von drei Aminosäuren im Peptidverband. Die Abspaltung von 2 Aminosäuren vom Aminoende als substituierte Hydantoin-3-essigsäure, die dem erwähnten Abbau zugrunde liegt, ermöglichte bis jetzt nur in bestimmten Fällen die Ermittlung der Reihenfolge dieser beiden Aminosäuren[7] und manchmal mit $NaBH_4$ auch die Bestimmung der C-AS[6]. Durch den Hydrazinabbau werden nun diese Schwierigkeiten behoben, und auch in Bezug auf andere Komplikationen ergänzen sich die beiden Methoden sehr gut. Lysylpeptide, die z. B. beim Hydantoin-3-essigsäure-Abbau einige Schwierigkeiten verursachen[2], lassen sich — wie erwähnt — mit Hydrazin glatt bestimmen, und Glycylpeptide, bei denen Gly als N-AS mit Hydrazin nur schwer gefunden werden kann, bieten beim andern Abbau keinerlei Schwierigkeiten.

So ergibt sich also aus der Kenntnis von 3 Aminosäuren im Peptidverband, und zwar der N-AS, der ihr benachbarten und der C-AS im Fall eines Tetrapeptides sofort die eindeutige Konstitution, während etwa die Möglichkeiten der Aminosäuresequenzen in einem aus fünf verschiedenen Aminosäuren aufgebauten Pentapeptid von 120 auf nur mehr 2 eingeschränkt werden.

Experimenteller Teil.

N-Cbzo-DL-Phenylalanyl-glycin-äthylester.

9 g N-Cbzo-DL-Phenylalanin wurden in 35 ml absol. Tetrahydrofuran gelöst, mit 6,8 g Tri-isoamylamin (1 Mol) versetzt und zur gekühlten Lösung (— 10°) 3,2 g (1 Mol) Chlorkohlensäure-äthylester zugefügt. Nach 10 Min. wurde eine Lösung von 3,1 g Glycin-äthylester (1 Mol) in 10 ml absol. Tetrahydrofuran zugetropft, wobei starke CO_2-Entwicklung zu beobachten war. Nach 12stünd. Stehen bei Zimmertemp. wurde von wenig Ungelöstem filtriert, mit 100 ml Wasser verdünnt, mit HCl angesäuert und mehrfach mit Essigester ausgeschüttelt. Die vereinigten Essigesterauszüge lieferten nach Waschen mit 1 n HCl, H_2O, Sodalösung und Wasser beim Eindampfen im Vak. einen öligen Rückstand, der zwei Schichten bildete. Die obere dünnflüssige wurde abgegossen (1,9 g) und konnte als Tri-isoamylamin identifiziert werden, während die untere Schicht (11,6 g) beim Verreiben mit Äther erstarrte. Ausbeute: 10 g (87% d. Th.) vom Schmp. 97 bis 101°[17]. Zur Analyse wurde aus wenig Äthanol umkristallisiert. Nadeln, Schmp. 101 bis 103°.

$C_{21}H_{24}O_5N_2$. Ber. N 7,29. Gef. N 7,18.

N-Cbzo-DL-Phenylalanyl-glycin.

Zur Verseifung wurden 3,8 g Äthylester in 40 ml Äthanol gelöst, mit 10 ml 1 n NaOH (1 Mol) versetzt und 2 Stdn. bei Zimmertemp. stehen gelassen.

[17] Alle Schmelzpunkte dieser Arbeit wurden im Mikroschmelzpunktsapparat nach *Kofler* bestimmt.

Hierauf wurde der Alkohol im Vak. abgedampft und der wäßr. Rückstand angesäuert. Es fiel ein Öl aus, das bald erstarrte und sich aus Äthanol umkrist. ließ. Ausbeute: 3,2 g (90% d. Th.). Schmp. 157 bis 159°. (Die Literatur[18] gibt 158 bis 159° an.)

$C_{19}H_{20}O_5N_2$. Ber. Äqu.-Gew. 356,4. Gef. Äqu.-Gew. 360 (Titr.).

Hydrazinsalz des Cbzo-Phe-Gly (V).

Wurde Cbzo-Phe-Gly (0,2 g) in 0,2 ml Hydrazinhydrat gelöst und nach 2stünd. Stehen bei Zimmertemp. im Vak. über H_2SO_4 das Hydrazin abgedampft, so konnten durch Umlösen aus absol. Äthanol 0,2 g Hydrazinsalz vom Schmp. 86 bis 105° gewonnen werden. Der Schmp. ist stark von der Anheizgeschwindigkeit abhängig und liegt bei langsamem Anwärmen bei 101 bis 105°.

$C_{19}H_{20}O_5N_2 \cdot N_2H_4$. Ber. N 14,43.
$(C_{19}H_{20}O_5N_2)_2N_2H_4$. Ber. N 11,28. Gef. N 12,77.

Beim Lösen in Wasser und Ansäuern der Lösung lieferte das Hydrazinsalz wieder N-Cbzo-Phe-Gly.

N-Cbzo-DL-Phenylalanyl-glycin-hydrazid (VI).

0,16 g Cbzo-Phe-Gly-äthylester wurden in 2 ml absol. Äthanol gelöst, mit 0,1 ml Hydrazinhydrat versetzt und über Nacht bei Zimmertemp. aufbewahrt. Nach dem Eindampfen im Vak. wurde der Rückstand 3mal aus Äthanol umkristallisiert. Schmp. 158 bis 161°.

$C_{19}H_{22}O_4N_4$. Ber. C 61,60, H 5,98. Gef. C 61,45, H 5,95.

Cbzo-Phe-Gly(-äthylester) + Hydrazinhydrat (bei 100°).

0,5 g des Cbzo-Peptides bzw. des Esters wurden in 0,7 ml Hydrazinhydrat (10 Mol) gelöst und 5 Stdn. im siedenden Wasserbad erhitzt. Hierauf wurde das überschüssige Hydrazin im Vak. abgedampft und der Rest im Exsikkator über H_2SO_4 so weit als möglich entfernt.

a) Cbzo-Phe-Gly: Die Hälfte des Rückstandes wurde mit überschüssigem Aceton 3 Stdn. gekocht, ein Teil davon papierchromatographiert, wobei nur Glycin nachzuweisen war, und der Rest mehrfach aus Äthanol umkristallisiert. Schmp. 192 bis 194°. Mischschmp. mit der Di-isopropylidenverb.[3] des Phenylalanin-N-carbonsäure-dihydrazids (II, R_1 = Benzyl): 192 bis 194°.

Den Rest des Hydrazinrückstandes erhitzten wir mit 5 ml Wasser 10 Min. zum Sieden und extrahierten anschließend die angesäuerte Lösung mit Äther im Apparat. Ausbeute: 0,095 g (66% d. Th.) vom Schmp. 185 bis 200°. Nach 2maligem Umkristallisieren aus Äthanol lag der Schmp. bei 205 bis 206°. Im Mischschmp. mit dem Aminohydantoin des Phenylalanins (IV, R_1 = Benzyl) ergab sich keine Depression.

b) Cbzo-Phe-Gly-ester: Hier wurde der ganze Hydrazinrückstand mit Wasser verkocht und die Aufarbeitung wie unter a) angegeben durchgeführt. Es wurden 0,17 g (64% d. Th.) 5-Benzyl-3-amino-hydantoin vom Schmp. 203 bis 205° erhalten, das nach Hydrolyse mit HCl (5 Stdn., 140°) im Papierchromatogramm ausschließlich Phenylalanin ergab.

---

[18] *F. W. Dunn* und *K. Dittmer*, J. Biol. Chem. 188, 263 (1951).

Cbzo-Phe-Gly(-äthylester) + Äthanol-Hydrazinhydrat (bei 100°).

0,5 g Cbzo-Peptid bzw. Cbzo-Peptid-äthylester wurden in 7 ml absol. Äthanol gelöst, mit 0,7 ml Hydrazinhydrat (10 Mol) versetzt und 5 Stdn. am siedenden Wasserbad unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abdampfen des Äthanols und Hydrazins im Vak. wurde das restliche Hydrazin weitgehend im Schwefelsäure-Exsikkator entfernt.

a) Cbzo-Phe-Gly: In diesem Fall erhielten wir aus dem Rückstand durch Umkristallisieren aus Äthanol 0,3 g Hydrazinsalz, das beim langsamen Anheizen von 99 bis 104° schmolz, nach Hydrolyse im Papierchromatogramm Phenylalanin und Glycin zeigte und bei der Behandlung mit verd. Säure wieder Cbzo-Phe-Gly vom Schmp. 156 bis 158° lieferte.

b) Cbzo-Phe-Gly-äthylesterer: Aus dem Ester ließen sich 0,25 g Cbzo-Phe-Gly-hydrazid gewinnen, das mit dem oben beschriebenen Produkt (VI) keine Depression im Mischschmp. zeigte.

Darstellung der N-Cbzo-Peptide.

Die für den Hydrazinabbau notwendigen Cbzo-Peptide wurden auf übliche Weise durch Acylieren ihrer Na-Salze (1 n NaOH) bei 0° mit 1,2 Mol Benzylchlorkohlensäureester und 1 n NaOH dargestellt. Hierauf wurde zur Entfernung von überschüssigem Benzylchlorkohlensäureester mit Äther ausgeschüttelt und mit HCl das Cbzo-Peptid gefällt, bzw. wenn es sich um leichter lösliche Verbindungen handelte, nach dem Ansäuern durch Ausschütteln mit Essigester gewonnen.

Cbzo-DL-Val-Gly-Gly: aus Methanol-Wasser, Schmp. 180 bis 182°, $C_{17}H_{23}O_6N_3$. Äqu.-Gew. ber. 365, gef. 375.

Cbzo-DL-Ala-DL-Leu-Gly: aus Äthanol, Schmp. 197 bis 199°, $C_{19}H_{27}O_6N_3$. Äqu.-Gew. ber. 393, gef. 395.

Cbzo-Gly-DL-Ala-Gly: aus Äthanol-Äther, Schmp. 150 bis 152°[19], $C_{15}H_{19}O_6N_3$. Äqu.-Gew. ber. 337, gef. 341.

Abbau im präparativen Maßstab.

Als Beispiel sei der Abbau von DL-*Ala*-DL-*Leu-Gly* etwas näher ausgeführt: 0,2 g Cbzo-Ala-Leu-Gly wurden mit 0,5 ml Hydrazinhydrat 6 Stdn. am siedenden Wasserbad erhitzt, das Hydrazin anschließend im Vakuumexsikkator über H_2SO_4 abgedampft und der Rückstand in 10 ml Wasser gelöst.

Bestimmung der C-AS: 1 ml der wäßr. Lösung wurde mit 1 Tropfen Benzaldehyd geschüttelt und nach 10 Min. die Suspension zur Entfernung von überschüssigem Benzaldehyd mit Äther ausgeschüttelt. Es wurde filtriert und das Filtrat papierchromatographiert: Nur *Glycin*.

In einem andern Fall wurde wenig des vom überschüssigen Hydrazin befreiten Reaktionsproduktes mit 2 ml Aceton 1 Std. gekocht, der Abdampfrückstand in wenig Wasser aufgenommen und wieder chromatographiert. Auch hier war nur *Glycin* vorhanden.

Bestimmung der N-AS: Die restlichen 9 ml der wäßr. Lösung wurden 30 Min. in einem offenen Kölbchen zum Sieden erhitzt, anschließend mit HCl angesäuert, 24 Stdn. mit Äther extrahiert und der Rückstand (0,025 g) bei 0,01 Torr und 140 bis 150° im Kugelrohr destilliert. Nach Umkristallisieren

[19] Lit. Schmp.: 145° [*Th. Wieland* und *R. Sehring*, Ann. Chem. **569**, 122 (1950)].

aus Äthanol-Äther schmolz das Aminohydantoin von 134 bis 136° und zeigte keine Depression im Mischschmp. mit dem 5-Methyl-3-amino-hydantoin (IV, $R_1 = CH_3$). Nach Hydrolyse mit HCl bei 140° (5 Stdn.) lag im Papierchromatogramm nur *Alanin* vor.

In analoger Weise konnten auch aus den Peptiden Ala-Gly und Val-Gly-Gly die entsprechenden Aminohydantoine [IV, $R_1 = CH_3$ bzw. $(CH_3)_2CH$] erhalten und durch Mischschmp. und Hydrolyse identifiziert werden.

Abbau im Mikromaßstab.

0,020 g (0,04 m Mol) Cbzo-Leu-Gly-Phe wurden mit 0,2 ml Hydrazinhydrat 6 Stdn. im siedenden Wasserbad erhitzt und nach Abdampfen des Hydrazins der Rückstand in 5 ml Wasser aufgenommen. Ein Teil der wäßr. Lösung wurde direkt papierchromatographiert, wobei als primärer und stärkster Fleck der des *Phenylalanins* auftrat. Daneben zeigten sich nach einiger Zeit noch schwache verwaschene Flecken, die wahrscheinlich von den Hydraziden herrührten.

Der Rest der wäßr. Lösung wurde 20 Min. gekocht, angesäuert und 48 Stdn. mit Äther extrahiert. Den Ätherrückstand chromatographierten wir, wie im allgemeinen Teil näher beschrieben (S. 963 und Tabelle 2), und erhielten dabei nur einen Fleck vom R_F-Wert des Leucin-Derivates (IV, $R_1 = (CH_3)_2CHCH_2$). Aus einem Parallelchromatogramm wurde mit Wasser eluiert, in einer Kapillare 5 Stdn. bei 140° hydrolysiert und erneut chromatographiert, wobei nur *Leucin* vorlag.

Monobenzalverbindung des DL-*Phenylalanin-hydrazides (VIII).*

0,2 g DL-Phenylalanin-hydrazid[3] (Schmp. 82 bis 84°[20]) wurden in 2 ml Wasser gelöst, mit 2 n H_2SO_4 auf ein pH von 2 bis 3 gebracht und mit 0,5 g (4 Mol) Benzaldehyd 10 Min. geschüttelt. Anschließend wurde zur Entfernung von überschüssigem Benzaldehyd mit Äther mehrfach ausgeschüttelt und die wäßr. Lösung, in der sich ein zähes Öl befand, mit NaOH alkalisch gemacht. Nach mehrstündigem Stehen auf Eis trat Kristallisation ein. Ausbeute: 0,22 g (74% d. Th.). Aus Äthanol, Schmp. 131 bis 133°.

$C_{16}H_{17}ON_3$. Ber. C 71,88, H 6,41. Gef. C 71,35, H 6,19.

Dibenzalverbindung des DL-*Phenylalanin-hydrazides (IX).*

Wurden 0,2 g Phe-hydrazid in einer wäßr. Lösung (2 ml), die mit NaOH auf ein pH von 8 bis 9 gebracht worden war, mit 0,5 g Benzaldehyd geschüttelt, wobei das pH durch Laugezugabe aufrechterhalten wurde, so konnten nach Aufarbeitung wie unter VIII beschrieben, 0,25 g (63% d. Th.) eines kristallinen Niederschlages erhalten werden, der nach Umkristallisieren aus Äthanol (Nadeln) von 140 bis 142° schmolz.

$C_{23}H_{21}ON_3$. Ber. C 77,71, H 5,96. Gef. C 77,36, H 5,92.

Abbau eines Glycyl-Peptides.

0,2 g Cbzo-Gly-DL-Ala-Gly wurden mit 0,5 g Hydrazinhydrat wie üblich (6 Stdn. 100°) behandelt. Der Rückstand wurde in 4 ml Wasser gelöst, mit 2 n H_2SO_4 angesäuert und mit Benzaldehyd geschüttelt, worauf bald

[20] Im Gegensatz zu den Angaben von *Akabori* und Mitarbeitern[10], die für das Phe-hydrazid als Schmp. 123 bis 124° angeben.

in dichter Niederschlag ausfiel. Nach Entfernung des überschüssigen Benzaldehyds mit Äther wurde abgesaugt und die wäßr. Lösung papierchromatographiert, wobei nur *Glycin* vorlag. Der Niederschlag wurde in n H_2SO_4 suspendiert und mit Äther erschöpfend extrahiert. Der Extrakt eß sich aus viel Äthanol umkristallisieren und schmolz dann von 235 bis 238°. m Mischschmp. mit der Dibenzalverbindung des Glycin-N-carbonsäureihydrazids[3] trat keine Depression ein. Nach energischer Hydrolyse (HCl, Stdn., 140°) lag im Papierchromatogramm nur *Glycin* vor.

Auch im Gly-Tyr konnte das Gly auf analoge Weise bestimmt werden.

Abbau von Lysozym.

30 mg Cbzo-Lysozym[2] wurden mit 0,5 ml wasserfreiem Hydrazin 8 Stdn. n siedenden Wasserbad erhitzt und anschließend das überschüssige Hydrazin n Vakuumexsikkator entfernt.

Bestimmung der C-AS.

a) Etwas des halbfesten Rückstandes wurde mit Aceton 2 Stdn. gekocht, er Rückstand in wenig Wasser aufgenommen und papierchromatographiert, obei ein deutlicher Fleck von *Leucin* neben einigen schwachen verwaschenen treifen auftrat.

b) Der Rest des Hydrazinrückstandes wurde in 2 ml Wasser gelöst und ,5 ml davon mit Benzaldehyd geschüttelt. Nach üblicher Reinigung mit ther wurde die wäßr. Mutterlauge chromatographiert und gab als einzige minosäure *Leucin*, wieder neben einigen verwaschenen sehr schwachen lecken.

Bestimmung der N-AS.

Die restliche wäßr. Lösung (1,5 ml) wurde 20 Min. gekocht, mit HCl ngesäuert und 3 Tage im Apparat mit Äther extrahiert. Den Rückstand hromatographierten wir in der beschriebenen Weise (s. S. 963) und erhielten nen schwachen Fleck mit dem R_F-Wert des ε-Cbzo-Lysinderivates [IV, $_1$ = Cbzo · $NH(CH_2)_4$]. Wurde aus einem Parallelchromatogramm dieser leck mit Wasser eluiert und in einer Kapillare mit HCl (5 Stdn., 140°) ydrolysiert, so lag im Papierchromatogramm nur *Lysin* vor.

Die Mikro-C-, H- und N-Analysen wurden von Herrn Dr. *G. Kainz* n Mikrolaboratorium des II. Chemischen Institutes ausgeführt.

Dieser und anderen Arbeiten[5–9] kam eine Zuwendung zugute, welche ie *Rockefeller*-Foundation einem von uns (F. W.) gewährt hat, wofür n dieser Stelle bestens gedankt sei.

Über die Chlorierung von Penta- und Hexachlorbenzol[1].

Von

R. Riemschneider und R. Oswald.

Aus der Freien Universität Berlin-Dahlem[2].

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 25. März 1954.)

Bei der Chlorierung von Penta- bzw. Hexachlorbenzol erhielten wir je nach Wahl der Versuchsbedingungen: Dodekachlorcyclohexan, C_6Cl_{12}, sowie Dekachlorcyclohexen, C_6Cl_{10}, und ein Enneachlorcyclohexen. Die Perchlorverbindungen C_6Cl_{12} und C_6Cl_{10} sind also trotz des Vorliegens von 6 bzw. 2 meta-Stellungen p-gebundener Cl-Atome[13b] existent. Die Bildung von C_6HCl_{11} wurde nicht beobachtet. — Sämtliche Polychlorverbindungen zeigten keine insektizide Wirksamkeit.

Im Rahmen unserer Untersuchungen über die Chemie von Poly halocyclohexanen und verwandten Verbindungen haben wir die Chlorie rung von Penta- und Hexachlorbenzol, C_6HCl_5 und C_6Cl_6, erneut[3] unter sucht.

C_6HCl_5 vom Schmp. 85° und C_6Cl_6 vom Schmp. 225° wurden unte den in Tabelle 1 angegebenen Bedingungen mit flüssigem Chlor um gesetzt. Aus allen Einschlußrohren, in denen C_6HCl_5 4 bis 20 Woche mit einem großen Überschuß an Chlor behandelt worden war, konnt C_6Cl_6 als Hauptprodukt isoliert werden. Bei einer Versuchsdauer vo 13 bis 30 Wochen entstand aus dem primär gebildeten C_6Cl_6 Dekachlor cyclohexen, C_6Cl_{10} vom Schmp. 96°, bei längeren Versuchszeiten auße

[1] Mitt. XXXVII der Reihe „Zur Chemie von Polyhalocyclohexanen un verwandten Verbindungen".

[2] *Anschrift für den Schriftverkehr:* Prof. Dr. *R. Riemschneider*, Berli Charlottenburg 9, Bolivarallee 8.

[3] Frühere Untersuchungen: *T. van der Linden*, Rec. trav. chim. Pay Bas **55**, 569 (1936). — *R. Riemschneider*, 9. Beih., 1. Erg.-Bd. zur „Pharmazie S. 731—736, 1949.

em Dodekachlorcyclohexan, C_6Cl_{12} vom Schmp. 286°. Bei keinem der sgesamt durchgeführten 45 C_6HCl_5-Chlorierungsversuche haben wir die

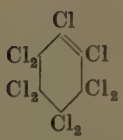
abelle 1. Chlorierungen von Penta- und Hexachlorbenzol im Einschlußrohr.

Lfd. Nr.	C_6HCl_5 g	C_6Cl_6 g	Cl_2 ml	Versuchsdauer Wochen	Isoliert [5]			
					C_6Cl_6	C_6HCl_9	C_6Cl_{10}	C_6Cl_{12}
1	5	—	40	0,5[4]	+ (5)			
2	5	—	40	1[4]	+			
3	5	—	50	8[4]	+	+		
4	5	—	30	11[4, 6]	+			
5	7	—	40	13[4, 6]	+ (5)		+	
6	10	—	40	15	+ (8)		+	
7	5	—	40	34[4]	+		+	+
8	5	—	3	27[7]	+	+	+	
9	—	5	2	8[7]	+ (5)[8]			
10	—	10	40	9[9]	+ (7)[8]		+ (5)	
11	—	7	40	14[10]			+	+
12	—	5	50	15	+ (4)[8]		+	
13	—	5	25	18[11]	+[8]		+	+
14	—	10	40	22[9]	+[8]		+	
15	—	10	50	23[9]	+ (7)[8]		+ (0,7)	+ (2)
16	—	5	40	30[12]			+ (1,5)	+ (3)
17	—	5	50	32[12]			+ (0,8)	+ (3)

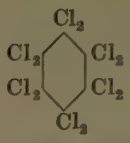
ldung von Endekachlorcyclohexan, C_6HCl_{11}, beobachten können. Eine rstufe von C_6HCl_{11}, ein Enneachlorcyclohexen, C_6HCl_9, vom Schmp. 85 86°, ließ sich aus solchen C_6HCl_5-Chlorierungen abtrennen, bei denen r wenig Chlor zur Einwirkung gebracht worden war oder bei denen e Reaktionsdauer weniger als 10 Wochen betrug (z. B. Tabelle 1, . Nr. 8 und 3). C_6HCl_{11}-Bildung stellten wir auch in diesem Falle cht fest. C_6HCl_9 geht bei der Weiterchlorierung in C_6Cl_{10} und C_6Cl_{12} er. (Formeln siehe S. 974.)

Die Chlorierung von C_6HCl_5 führt im wesentlichen zu denselben lorierungsprodukten wie die Einwirkung von Chlor auf C_6Cl_6 (Tabelle 1). e Addition des letzten Mol Chlor an C_6Cl_{10} erfolgt außerordentlich

[4] Völlig gelöst nach 2 bis 5 Tagen.
[5] Die in Klammern hinzugefügten Zahlenangaben bedeuten g isolierter bstanz.
[6] Nach 3 Wochen Kristallabscheidung im Rohr.
[7] Ungelöst.
[8] Unverändertes Ausgangsprodukt.
[9] Zum Teil gelöst.
[10] Völlig gelöst nach 2 Wochen. Kristallabscheidung nach 7 Wochen.
[11] Zum Teil gelöst nach 4 Wochen.
[12] Völlig gelöst im Laufe der Zeit.



C_6Cl_{10} = 1,2,3,3,4,4,5,5,6,6-Dekachlor-cyclohexen-(1).



C_6Cl_{12} = 1,1,2,2,3,3,4,4,5,5,6,6-Dodekachlor-cyclohexan.

schwer, wie aus den langen Versuchszeiten hervorgeht, die zur Bildun von C_6Cl_{12} eingehalten werden müssen (Tabelle 1). Die Tatsache, da C_6HCl_{11} bei der Chlorierung von C_6HCl_5 *nicht* entsteht, läßt sich, wen

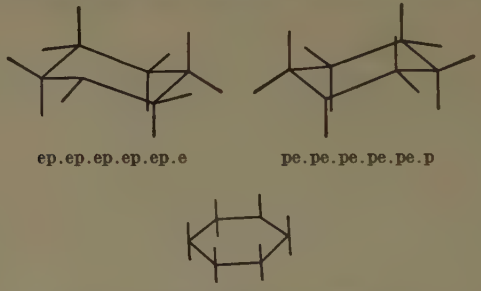


Abb. 1. Konfigurationen des Endekachlorcyclohexans, C_6HCl_{11}.
Für die beiden theoretisch möglichen Sessel-Konfigurationen von C_6HCl_{11} läßt sich nur *eine* ve einfachte ebene Konfiguration aufzeichnen.

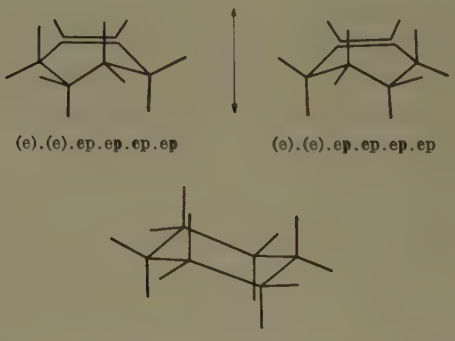


Abb. 2. Konfigurationen des Dekachlorcyclohexens, C_6Cl_{10}, und Dodekachlorcyclohexans, C_6Cl

wir von anderen Faktoren absehen, dadurch erklären, daß die *Substitutio* des Wasserstoffes in C_6HCl_5 bzw. C_6HCl_9 leichter als die *Addition* vo Chlor erfolgt. Möglicherweise ist C_6HCl_{11} überhaupt nicht existen da die beiden theoretisch möglichen Sessel-Konfigurationen vo C_6HCl_{11}: ep.ep.ep.ep.ep.e und pe.pe.pe.pe.pe.p (Abb. 1) fünf bz sechs meta-Stellungen p-gebundener Cl-Atome aufweisen, in den Ko figurationen der bisher isolierten H-haltigen Polychlorcyclohexane u

cyclohexene jedoch nur eine, meist aber gar keine meta-p-Stellung on Hal-Atomen vorkommt[13b]. Daß wir die Perchlorverbindungen C_6Cl_{10} nd C_6Cl_{12} mit 2 bzw. 6 meta-p-Stellungen der Cl-Atome (Abb. 2) her-tellen konnten (Tabelle 1), spricht *nicht* für die Existenz von C_6HCl_{11}, da Perchlorverbindungen nicht zum Vergleich herangezogen werden dürfen.

Für C_6HCl_{11} haben wir uns besonders interessiert, da diese Verbindung ur Prüfung der Frage, ob sich zwei zueinander in Konversionsbeziehung tehende Sessel-Konfigurationen als getrennt nebeneinander vorliegend achweisen lassen (Abb. 1), von Wert gewesen wäre. In Hinsicht auf ie zuletzt genannte Fragestellung befassen wir uns auf Grund der Er-ebnisse dieser Arbeit mit der Herstellung der C_6HCl_{11}-Analogen C_6FCl_{11} nd $C_6F_2Cl_{10}$.

Sämtliche in dieser Arbeit beschriebenen Polychlorcyclohexane bzw. cyclohexene zeigten im Petrischalen*filter-* oder *-film*test bei Anwendung on 1 mg/Schale *keine* insektizide Wirksamkeit auf *Calandra granaria* L., *Drosophila melanogaster* M. und *Musca domestica* L.

Chlorierung von Penta- und Hexachlorbenzol, C_6HCl_5 und C_6Cl_6.

Die Chlorierung von C_6HCl_5 vom Schmp. 85° und C_6Cl_6 vom Schmp. 225° folgte ausschließlich in Einschlußrohren. Die in Tabelle 1 angegebenen Mengen von C_6HCl_5 bzw. C_6Cl_6 und Chlor wurden in der in Mitt. XXVII[13a] ieser Reihe beschriebenen Weise in Rohre eingeschmolzen und auf dem Dach unseres Institutes dem Tageslicht ausgesetzt.

Die Aufarbeitung der Reaktionsprodukte erfolgte durch fraktionierte Kristallisation. Schwer löslich in Alkohol waren: C_6Cl_6 (Nadeln) vom chmp. 225° und vor allem C_6Cl_{12} (Prismen) vom Schmp. 286° (Schmelz-unktsbestimmung im zugeschmolzenen Rohr). Aus den alkohol. Mutter-ugen isolierten wir: C_6Cl_{10} (Blättchen) vom Schmp. 95 bis 96° bzw. C_6HCl_9 Rauten) vom Schmp. 85 bis 86°[13a].

C_6HCl_9 (392,5). Ber. Cl 81,4. Gef. Cl 81,6.
C_6Cl_{10} (427). Ber. Cl 83,1. Gef. Cl 83,2.
C_6Cl_{12} (498). Ber. Cl 85,6. Gef. Cl 85,5.

Zur weiteren Charakterisierung wurden C_6Cl_{10} und C_6Cl_{12} einer Zink-aubbehandlung unterworfen, wobei unter Bildung von C_6Cl_6 4 bzw. 6 Cl-tome abgespalten wurden.

C_6Cl_{10} hat das Dipolmoment Null, C_6Cl_{12} das Moment fast Null (0,28 D), emessen in Benzollösung bei 30°[14].

Der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* sei für die Förderung der rliegenden Arbeit bestens gedankt. Bei der Durchführung der Test-rsuche wurden wir von Frl. *D.-M. Kah* und *M. Mueller* in dankens-erter Weise unterstützt.

[13] *R. Riemschneider*, a) Mitt. XXVII, Mh. Chem. 84, 515 (1953); b) Mitt. XX, Österr. Chem.-Ztg. 55, 165 (1954), besonders Tabelle 10.

[14] *Y. Morino, I. Miyagawa* und *R. Riemschneider*, Bull. Chem. Soc. pan, in Druck.

Untersuchungen an dem System BaO_2/Fe_2O_3 mit Hilfe der Hahnschen Emaniermethode.

Von

G. F. Hüttig, H. Jöbstl und G. Glawitsch.

Aus dem Institut für anorganische und physikalische Chemie der Technische Hochschule Graz.

Mit 4 Abbildungen.

(Eingelangt am 15. Juni 1954.)

Der Verlauf des Vorganges $2\,BaO_2 + 12\,Fe_2O_3 \rightarrow 2\,(BaO \cdot 6\,Fe_2O_3) + O_2$ wird mit Hilfe der *Hahn*schen Emaniermethode verfolgt. Dadurch, daß in gleicher Weise auch die einzelnen Komponenten BaO_2 (Abb. 1 und 2) und Fe_2O_3 (Abb. 3), für sich untersucht und in den Gemischen einmal das BaO_2, das andere Mal das Fe_2O_3 radioaktiv indiziert werden, ist es möglich, die charakteristischen Merkmale dieses Reaktionstyps zu beschreiben.

Aus BaO und Fe_2O_3 lassen sich Präparate herstellen, welche infolg ihrer hohen Remanenz und Koerzitivkraft sowohl die Grundlagen forschung wie auch die Technik interessieren[1]. Die vorliegende Arbe hat es sich zur Aufgabe gemacht, den Verlauf der Bildung von Barium ferriten aus Gemischen von BaO und Fe_2O_3 (bzw. aus Stoffen, welch bei mäßigem Erhitzen in dieses Gemisch übergehen) mit Hilfe d *Otto Hahn*schen Emaniermethode zu untersuchen[2]. Wird zumindest eine der beiden Komponenten eine radioaktive, emanationsabgebend Atomart eingebaut, so wird bei allmählich ansteigender Erwärmung d Gemisches in denjenigen Temperaturgebieten ein erhöhtes Emanierve mögen beobachtet, wo infolge einer Beteiligung dieser Komponente a dem chemischen Geschehen eine Auflockerung ihres festen Gefüges stat

[1] Philipspatente, z. B. Ö. P. 164 796. — *H. P. Wijn* und *J. J. Wer* „Philips' Technische Rundschau" **17**, 976 (1951).

[2] Vgl. die neueste zusammenfassende Darstellung von *O. Hahn*, Pro International Symposium Reactivity of Solids, Gothenburg 1954, S. 21

findet. Diese Versuchsreihen wurden in einer Anordnung ausgeführt, die im wesentlichen die gleiche war, wie sie *Zimens*[3] benützte. Bei allen unseren Versuchen wurde mit Hilfe einer automatischen Anordnung ein konstanter Temperaturanstieg von 6° pro Minute eingehalten. Das Mischungsverhältnis war stets 1 BaO : 6 Fe_2O_3.

Das BaO wurde dem Gemisch als ein wasserhaltiges BaO_2 einverleibt. Hier erfolgte die radioaktive Indizierung mit dem Radiumisotop Thorium-X (ThX), der Muttersubstanz des Thorons (Tn). Da sowohl ThX als auch Ba der zweiten Kolonne des periodischen Systems angehören, ist die Homogenität der Indizierung gewährleistet. Die Abtrennung des ThX von dem Radiothorium (RdTh) aus der gemeinsamen Lösung erfolgte durch Zusatz einer kleinen Menge eines Eisen-III-salzes und Ausfällung mit Ammoniak als Eisenhydroxyd. Das RdTh bleibt vollständig im Niederschlag, das ThX hingegen im Filtrat. Diesem Filtrat wird eine Bariumsalzlösung zugesetzt, aus welcher mit Na_2O_2 das Bariumperoxydhydrat ausgefällt wird. In diesem Niederschlag befindet sich das gesamte ThX. Der größte Teil des Kristallwassers läßt sich durch Trocknen im Vak. entfernen.

Das Fe_2O_3 wurde aus gefälltem Eisen(III)-hydroxyd durch Glühen bei 700° bis 800° C hergestellt. Die radioaktive Indizierung des Eisen(III)-hydroxydes erfolgte *entweder* mit RdTh *oder* mit ThX. Die Indizierung mit RdTh ist in dem vorliegenden Fall die zweckentsprechendere, da bei der Fällung mit Ammoniak der entstehende fein verteilte Niederschlag das RdTh genügend gleichmäßig und vollständig aufnimmt. ThX wird von dem Niederschlag nur dann in nennenswertem Ausmaße aufgenommen, wenn dem Fällungsmittel etwas $(NH_4)_2CO_3$ zugesetzt wird; mit einer gleichmäßigen Verteilung kann hier kaum gerechnet werden, was auch daraus hervorgeht, daß die Emanantionskurven der mit RdTh und der mit ThX indizierten Präparate verschieden sind.

In der gleichen Weise wie vorangehend beschrieben, wurden auch BaO_2- bzw. Fe_2O_3-Präparate hergestellt, welche nicht radioaktiv indiziert waren. In allen Fällen wurden — insoweit nicht ausdrücklich das Gegenteil vermerkt ist — die fertigen Ausgangsprodukte in einer mechanisch betriebenen Reibschale bis zu einer mittleren Korngröße von 2 μ gemahlen.

Im nachfolgenden werden aus einer größeren Anzahl von Versuchsreihen[4] einige charakteristische Ergebnisse in graphischer Darstellung mitgeteilt. Auf der Abszisse ist immer die Temperatur und die dieser proportionale Erhitzungszeit (vgl. oben) und auf der Ordinate das Ausmaß der Emanationsabgabe (die „Aktivität") aufgetragen; hierbei sind nicht die Absolutwerte des Emaniervermögens angegeben, sondern die Ordinate ist proportional den Ausschlägen des Lichtzeigers am Spiegelgalvanometer geteilt.

---

[3] *K. E. Zimens*, Z. physik. Chem. (A) **186**, 94 (1940); vgl. auch **191**, 1, 5 (1942); **192**, 1 (1943).

[4] Die vollständige Wiedergabe aller Beobachtungen ist aufgenommen in der Arbeit von *H. Jöbstl*, „Die Bildung der Bariumferrite untersucht nach der *Hahn*schen Emaniermethode". Diplom-Arbeit, Technische Hochschule Graz (1954).

Die Abb. 1 betrifft ein *ungemahlenes, radioaktiv indiziertes* $BaO_2 \cdot aq$ bei welchem das über die Substanz streichende, die abgegebene Emana tion in die Meßapparatur transportierende Gas (= „Trägergas") Stick stoff war. Die voll ausgezogene Kurve gibt die Beobachtungen wieder Die gestrichelte Kurve bezeichnet einen Verlauf, der eintreten würde wenn das Präparat keine chemischen Umwandlungen oder Alterungen oder sonst irgend welche irreversiblen Veränderungen erleiden würde

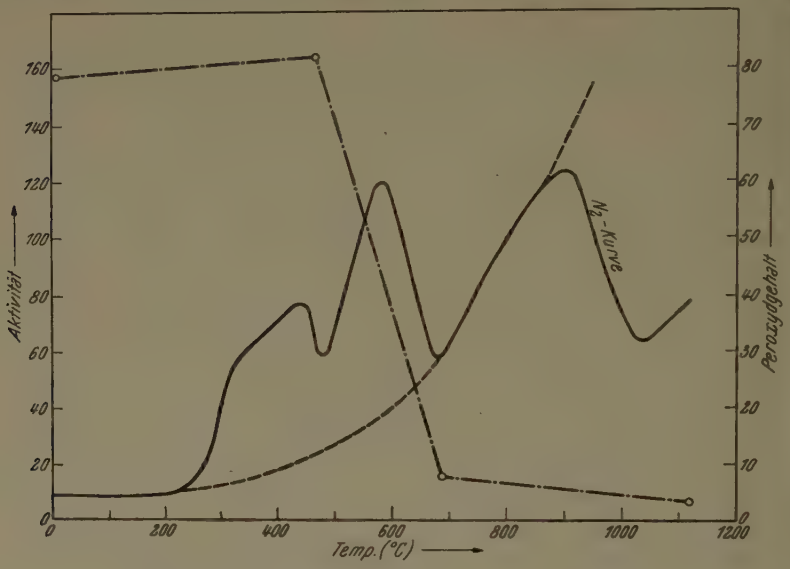


Abb. 1. $BaO_2 \cdot aq$ indiziert, *ungemahlen*, Stickstoff als Trägergas.

Der Anstieg der gestrichelten Kurve mit der Temperatur ist in der mit steigender Temperatur reversibel anwachsenden Auflockerung des feste Gefüges begründet; der exponentielle Verlauf kann als Grundlage fü eine Berechnung dienen, im übrigen ist dies auch der beobachtete Verlau für die hoch vorerhitzten Präparate. Die strichpunktierte Kurve gib den analytisch ermittelten BaO_2-Gehalt (Ordinate auf dem rechten Bild rand) an. Dieser muß entsprechend der Reaktion $BaO_2 \rightarrow BaO + {}^1/_2\,O$ mit steigender Temperatur sinken.

In dem Verlauf der beobachteten voll ausgezogenen Kurven sin drei Maxima enthalten. Das bei 450° C auftretende ist unschwer auf ein vorübergehende Gitterauflockerung infolge Abspaltung von chemisc gebundenem Wasser zurückzuführen, wohingegen das bei 590° C beob achtete Maximum in analoger Weise durch die Sauerstoffabgabe de Präparates zu deuten ist. Das bei etwa 900° C liegende Maximum komm dadurch zustande, daß etwa zwischen 700 und 900° C nur der normal

temperaturbedingte Anstieg des Emaniervermögens, dem aber dann bei höheren Temperaturen die Sinterung und Rekristallisation zu größeren Aggregaten mit ihren oberflächenverkleinernden Auswirkungen entgegen tritt. Wenn dieser Prozeß bei etwa 1050° C im wesentlichen abgeschlossen ist, so kann dann wieder der Anstieg des Emaniervermögens infolge weiterer Temperatursteigerung ungestört zur Beobachtung gelangen.

Die Abb. 2 betrifft ein *gemahlenes, radioaktiv indiziertes* $BaO_2 \cdot aq$,

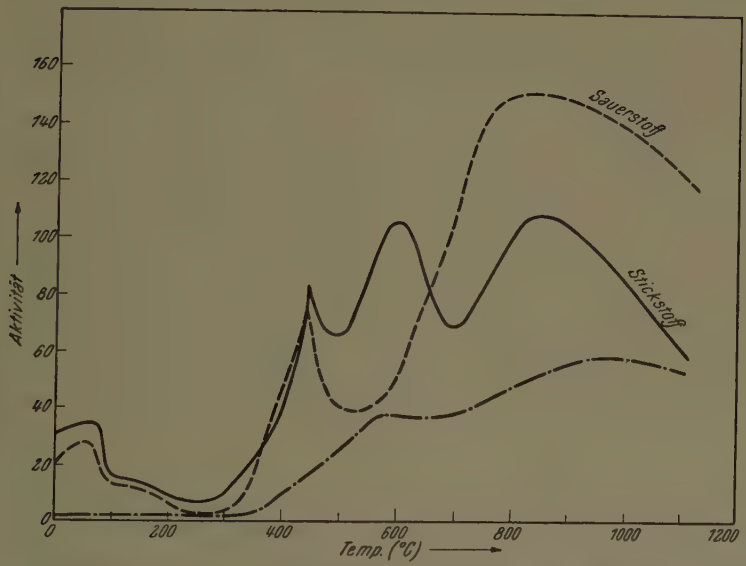


Abb. 2. BaO_2 aq. indiziert, gemahlen, als Trägergas: a) Stickstoff (voll ausgezogen), b) Sauerstoff (gestrichelt).

wobei die voll ausgezogene Kurve (= „N_2-Kurve") Stickstoff, die gestrichelte Kurve (= „O_2-Kurve") die in Sauerstoff als Trägergas ausgeführte Versuchsreihe wiedergibt.

Wir stellen fest, daß bereits bei Zimmertemperatur die Aktivität wesentlich höher liegt als in der Abb. 1. Dies wäre zwanglos als eine Vergrößerung der Oberfläche infolge des Zermahlens zu deuten. Indessen sieht man, daß bereits bei einem Erhitzen auf etwa 250° die Aktivität absinkt. Da in diesem Temperaturbereich irgend welche Rekristallisationserscheinungen hier nicht in Betracht kommen, könnte dies mit einem durch mäßige Temperatursteigerung ausgelösten „Abdeckungs-Effekt"[5] erklärt werden. Es ist aber auch nicht ausgeschlossen, daß durch das Zerreiben Aktivierungen (z. B. Gitterdeformationen) erfolgt

[5] *G. F. Hüttig*, Handbuch der Katalyse Bd. VI, S. 421. Springer-Verlag Wien 1943.

sind[6], die dem Thoron ein leichteres Heraus-Diffundieren aus dem Kristall-Inneren gestatten und daß solche Gitterverspannungen schon bei mäßigen Temperatursteigerungen wieder rückgängig gemacht werden.

Der Vergleich der N_2-Kurve der Abb. 1 und 2 zeigt, daß die Temperatur der Wasserabgabe und ebenso auch der Sauerstoffabgabe durch das Zermahlen kaum verändert wird, daß jedoch der Einfluß des Sinter-Effektes bei dem gemahlenen Präparat bei etwas niedrigeren Temperaturen in Erscheinung tritt.

Der Abb. 2 entnimmt man ferner, daß die Temperatur, bei welcher das Wasser abgegeben wird, weitgehend unabhängig davon ist, ob als Trägergas Stickstoff oder Sauerstoff verwendet wird. Während aber die Sauerstoffabgabe im Stickstoffstrom ihren Höhepunkt schon bei 600° C hat, wird dieser im Sauerstoffstrom erst bei 800° erreicht. Man darf annehmen, daß in beiden Fällen für jede Temperatur auch das endgültige thermodynamische Reaktionsziel ein verschiedenes ist, indem dieses bei einem höheren Sauerstoffdruck in der Gasatmosphäre bei sauerstoffreicheren Bodenkörpern liegt[7]. In diesem Zusammenhang sei auch darauf hingewiesen, daß selbst bei 1100° im Stickstoffstrom (Abb. 1) noch eine kleine Menge BaO_2 analytisch festgestellt wurde.

Das im Sauerstoffstrom die Sauerstoffabgabe kennzeichnende Maximum bei etwa 800° geht über in das Maximum, welches durch Sinterung und Rekristallisation bedingt ist. Das durch Sauerstoffabgabe jeweils gebildete BaO verfällt auch gleich einer Ausheilung der Gitterbaufehler und einer Kornvergröberung, infolge Sinterung und Rekristallisation.

In der Abb. 2 sind schließlich als strichpunktierte Kurve diejenigen Beobachtungen eingetragen, welche mit einem bereits zersetzten Präparat nach dem Abkühlen auf dem Wege einer neuerlichen Erhitzung im Stickstoffstrom gemacht wurden.

Die Abb. 3 betrifft ein *gemahlenes* Fe_2O_3, welches im *Stickstoff* als Trägergas untersucht wurde. Die voll ausgezogene Kurve bezieht sich auf die *Indizierung* mit *RdTh*, die gestrichelte auf diejenige mit *ThX*.

Wir haben schon in der Einleitung darauf hingewiesen, daß man hier nur bei der Indizierung mit RdTh eine homogene Durchdringung annehmen darf, wohingegen bei ThX nur mit einer oberflächlichen Adsorption zu rechnen ist. Dementsprechend ist der Verlauf der beiden Kurven vollständig verschieden.

Den früheren Ergebnissen unmittelbar vergleichbar, sind die mit RdTh erhaltenen Ergebnisse. Etwa zwischen 100° und 200° C sehen wir in Analogie zu dem am zermahlenen BaO_2 aq beobachteten Ver-

[6] Vgl. Ebda. S. 404.

[7] Bezüglich dieser den Reaktionstypus A starr + B gasförmig → AB starr betreffenden Eigentümlichkeiten vgl. die zusammenfassende Darstellung von *G. F. Hüttig*, Mh. Chem. 85, 98, 365 (1954), insbesondere die S. 110ff.

halten auch hier einen als Abdeckung oder Ausheilung zu deutenden Mahlungseffekt. Etwa von 250 bis 780° erfolgt dann ein gleichmäßiges, leicht nach oben gekrümmtes Ansteigen der Aktivität. Nimmt man die Schmelztemperatur des Fe_2O_3 mit 1570° C an, so liegt entsprechend der auf die absolute Schmelztemperatur bezogenen Temperaturzählung (vgl. die Teilung des oberen Randes der Abb. 3) dieses Gebietes etwa zwischen den Grenzen $\alpha = 0{,}3$ und 0,57. Das ist das Temperaturgebiet,

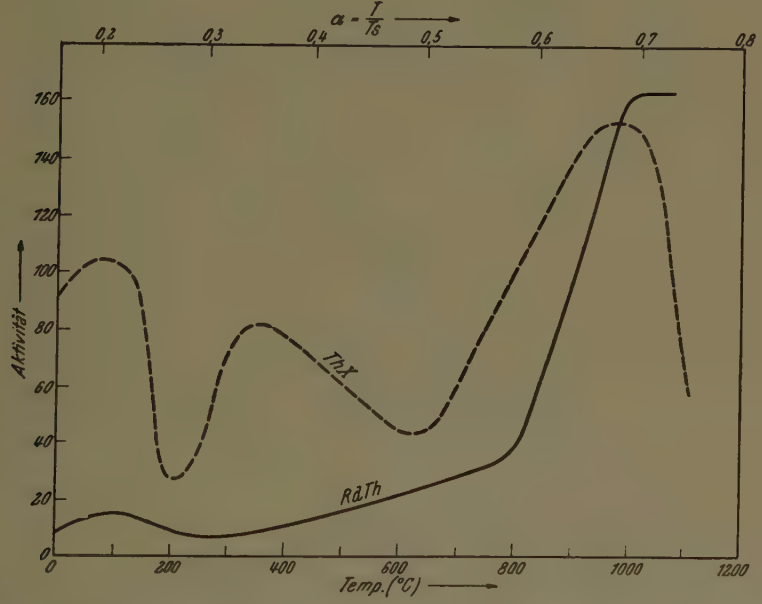


Abb. 3. Gemahlenes Fe_2O_3, Stickstoff als Trägergas, indiziert a) mit RdTh (voll ausgezogen), b) mit ThX (gestrichelt).

in welchem man als dominierenden Vorgang eine Oberflächendiffusion annimmt[8]. Etwa bei 780° geht die Kurve durch einen Knickpunkt und wendet sich steil nach oben. Jetzt sind wir in dem Gebiet mit vorherrschender Gitterdiffusion. Der Anstieg ist bei etwa 980° wenigstens vorübergehend beendet, was auf die Auswirkung einer Sinterung bzw. Rekristallisation zurückgeführt werden muß. Der Verlauf dieser Kurven läßt unter Voraussetzung der angegebenen Kausalität auch einen Rückschluß auf die Aktivierungswärmen ($= q$) der Oberflächen-Diffusion ($q_1 = 4100$ cal) und die Gitter-Diffusion ($q_2 = 22300$ cal) zu[9]. Alles in Allem läßt sich feststellen, daß irgend welche chemischen Vorgänge im Verlaufe des Erhitzens unseres Fe_2O_3-Präparates nicht auftreten.

[8] *G. F. Hüttig*, Handbuch der Katalyse, loc. cit. S. 390ff.

[9] Vgl. hierzu auch *H. Schreiner*, Österr. Chem.-Ztg. **53**, 233 (1952).

Auf der gleichen Grundlage läßt sich auch die im wesentlichen wohl die Oberflächenveränderungen erfassende mit ThX erhaltene Kurve verstehen. Der Mahleffekt ist hier noch ausgeprägter, die mit einer merklichen Oberflächendiffusion einsetzende Oberflächen-Rekristallisation bildet sich mit einem bei etwa 350° C liegenden Maximum ab und die sich notwendigerweise auch auf die Oberflächenverhältnisse auswirkende Gitterdiffusion tritt als ein bei etwa 980° C liegendes Maximum in Erscheinung.

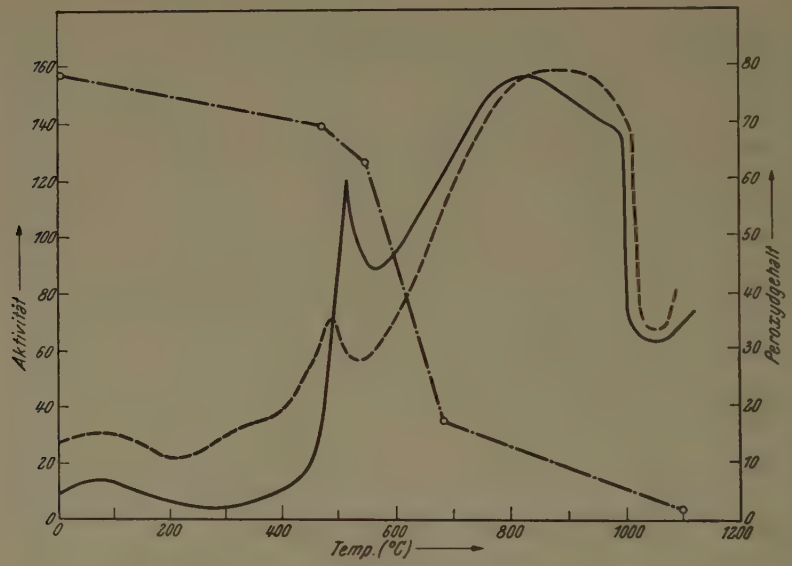


Abb. 4. Gemisch von gemahlenem $BaO_2 \cdot aq$ und Fe_2O_3; Stickstoff als Trägergas, a) $BaO_2 \cdot aq$ indiziert mit ThX und Fe_2O_3 inaktiv (voll ausgezogene Kurve), b) $BaO_2 \cdot aq$ inaktiv und Fe_2O_3 indiziert mit RdTh (gestrichelte Kurve).

Die Abb. 4 betrifft eine *gemahlene Mischung von* $BaO_2 \cdot aq$ *und* Fe_2O_3 in dem stöchiometrischen Mischungsverhältnis 1 BaO : 6 Fe_2O_3. Als Trägergas wurde Stickstoff verwendet. Die *voll* ausgezogene Kurve betrifft eine Versuchsreihe, bei welcher BaO_2 *aq mit ThX indiziert* und Fe_2O_3 *inaktiv war*. Die *gestrichelte* Kurve bezieht sich auf Versuche bei denen $BaO_2 \cdot aq$ *inaktiv* und Fe_2O_3 *mit RdTh indiziert war*. Die strichpunktierte Kurve gibt in gleicher Weise wie in Abb. 1 den Gehalt an BaO_2 in Gewichtsprozenten des eingewogenen $BaO_2 \cdot aq$ an.

Der Mahleffekt ist in dem Gemisch in unveränderter Weise vorhanden, wie er auch bei den einzelnen für sich untersuchten Komponenten beobachtet wird. Auch das die Wasserabgabe kennzeichnende Maximum in der mit indiziertem BaO_2 aq aufgenommenen Kurve zeigt eine nur geringe Verschiebung (von 450° auf 520°) in der Richtung gegen höhere Tem-

peratur. Dies mag darauf zurückzuführen sein, daß dieser Effekt diesmal bereits von einer deutlichen Sauerstoffabgabe überlagert ist.

Während bei der Erhitzung des unvermischten $BaO_2 \cdot aq$ die Sauerstoffabspaltung erst kurz unterhalb 500° beginnt und oberhalb 700° zum größten Teil beendet wird, bewirkt die Gegenwart von Fe_2O_3, daß die Sauerstoffabgabe bereits kurz oberhalb der Zimmertemp. einsetzt, und daß sie anderseits auch oberhalb 800° noch lange nicht auch nur näherungsweise beendet ist. Die Anwesenheit des Fe_2O_3 beschleunigt also die Sauerstoffabgabe in den niederen Temperaturgebieten und verzögert sie bei höheren Temperaturen.

Da bei Temperaturen bis mindestens 400° eine Bildung von Ferriten in merklichem Ausmaße nicht in Betracht kommt, so muß die auf die Sauerstoffabgabe beschleunigende Wirkung des Fe_2O_3 als ein katalytischer Effekt angesprochen werden. Die Affinität des Fe_2O_3 zu dem BaO dokumentiert sich hier als eine Auflockerung des BaO_2 etwa entsprechend dem Schema

$$\boxed{Fe_2O_3 + BaO} \quad O.$$

Sehr beachtlich scheint uns die Beobachtung zu sein, daß bei einer solchen Funktion des Fe_2O_3 dieses selbst auch eine *Auflockerung erfährt*, wie sich eindeutig aus dem bei etwa 490° liegenden Maximum der gestrichelten (also der mit indiziertem Fe_2O_3 aufgenommenen) Kurve in der Abb. 4 ergibt.

Während bei den tieferen Temperaturen (also etwa unterhalb 500°) sich innerhalb realisierbarer Versuchszeiten das Fe_2O_3 mit dem BaO, welches es dem O entrissen hat, nicht auch noch vereinigen kann, also das einen Katalysator kennzeichnende Merkmal, des um seine Beute „betrogenen Betrügers" hat, wird bei höheren Temperaturen (etwa oberhalb 600°) die chemische Vereinigung des Fe_2O_3 zu dem BaO erfolgen und aus dem Katalysator wird hier ein vollwertiger chemischer Reaktionspartner. Die Meinung, daß die für eine chemische Reaktion erforderliche räumliche Koexistenz so zustande kommt, daß die Moleküle des Fe_2O_3 von den Berührungsstellen mit dem BaO aus zunächst über die Oberfläche des letzteren wandern und das BaO umhüllen, um dann schließlich in dessen Gitterinneres zu diffundieren, bestätigen die vorliegenden Versuche weitgehend. Während des Vorganges der chemischen Vereinigung (etwa oberhalb 600°) nimmt das Emaniervermögen des Fe_2O_3 stärker zu als dasjenige des BaO, um es (in der Abbildung bei etwa 830°) schließlich zu überhöhen. Die für das Ausmaß des Emaniervermögens maßgebende Oberfläche des umhüllenden Fe_2O_3 nimmt zu, wohingegen das BaO infolge Abdeckung seiner Oberfläche an Wirksamkeit verliert. Aber auch der Austritt von Sauerstoff aus dem in dem BaO noch enthaltenen

BaO_2 muß infolge der Umhüllung mit Fe_2O_3 bzw. dem sich daraus bildenden Ferrit eine Verlangsamung erfahren, so wie es ja auch tatsächlich beobachtet wurde.

Das durch eine Sauerstoffabgabe bedingte Maximum (wie es in der voll ausgezogenen Kurve zu erwarten ist) und das durch die chemische Ferritbildung bedingte Maximum (wie es in beiden Kurven zu erwarten ist), gehen hier im wesentlichen ineinander über. Der steile Abfall beider Kurven bei etwa 1000° zeigt an, daß bei dieser Temp. eine plötzliche Kornvergrößerung bzw. relativ weitgehende Ausheilung der Gitterbaufehler des gebildeten Ferrits stattfindet. Nachdem dieser Abfall erfolgt ist, gelangt man in das Gebiet derjenigen Zustände, welche durch ihre hohe Remanenz und Koerzitivkraft Interesse erwecken.

Die in dieser Arbeit mitgeteilten Beobachtungen betreffen (wenn man etwa von der hier nicht sehr belangvollen Wasserabgabe des $BaO_2 \cdot aq$ absieht) den Reaktionstypus AB starr $+ C$ starr $\rightarrow AC$ starr $+ B$ gasförmig, wobei in unserem Falle $A = BaO$, $B = O$ und $C = Fe_2O_3$ ist. Ein anderes technisch gleichfalls interessierendes Beispiel dieses Reaktionstyps ist der Vorgang $CaSO_4 + SiO_2 \rightarrow CaSiO_3 + SO_3$. Es sei diesbezüglich auf die Untersuchungen von *v. Bischoff*[10] hingewiesen. Zuletzt möchten wir noch die hier wiederum mehrfach erbrachte Bestätigung des verallgemeinerten (und gerade für die vorliegende Untersuchungsmethode in charakteristischer Weise erfaßbaren) *Hedvall*schen Prinzips unterstreichen: Wenn irgend ein langlebiger Zustand in einen anderen langlebigen Zustand übergeht, so schreitet dieser Vorgang über Zustände erhöhter Aktivität (Auflockerung). Dies gilt sowohl für die Zustände im Gesamt-Aggregat, wie auch für diejenigen, welche nur die Oberfläche betreffen. Die erhöhte Aktivität hat begriffliche Ähnlichkeit mit der in der Gas-Kinetik eingeführten Vorstellung von der „Aktivierungsenergie". Man darf annehmen, daß bei isothermer Betrachtung ein Zustand um so langlebiger ist, je höher das für den Übergang in einen nächsten Zustand erforderliche Ausmaß der Auflockerung liegt.

[10] *F. v. Bischoff*, Z. anorg. Chem. **250**, 10 (1942).

Biophysikalische Analyse der Konzentrations-Wirkungskurven von Wirkstoffen (insbesondere Zellstreckungswuchsstoffen).

Von

Karl Kaindl.

Aus dem biologischen Laboratorium der Österreichische Stickstoffwerke A. G. in Linz/Donau.

Mit 13 Abbildungen.

(Eingelangt am 23. April 1954.)

Es wird der Versuch unternommen, auf Grund der Modellvorstellungen, welche *Linser*[1] zu einer allgemeinen Wirkstoffhypothese aufstellte, eine quantitative Analyse der Wirkungsweise von Stoffen zu geben, welche das Zellstreckungswachstum von Pflanzen beeinflussen. An Hand von einigen experimentellen Konzentrations-Wirkungskurven, deren mathematische Funktion aufgestellt wird, wird die Brauchbarkeit der theoretischen Überlegungen diskutiert und ein relatives Maß für den gesamten Effekt von Wirkstoffen gewonnen.

Einleitung.

Zahlreiche experimentelle Befunde zeigen, daß es bestimmte Wirkstoffe gibt, die fördernd oder hemmend auf das Zellstreckungswachstum einer Pflanze einwirken. Die folgenden Untersuchungen stützen sich auf Ergebnisse von *Linser*, welcher durch seine Pastenmethode[2] in ein und demselben Test gleichwertig die hemmende oder fördernde Wirkung eines Stoffes erfassen kann. Über den möglichen Wirkungsmechanismus entwickelte er eine qualitative Modellvorstellung[3], welche in dieser Arbeit eine quantitative Darstellung finden soll. Schon in früheren Arbeiten[4–7]

[1] Mh. Chem. 85, 196 (1954).

[2] *H. Linser*, Zur Methodik der Wuchsstoffbestimmung. Planta 28, 227 (1938).

[3] *H. Linser*, Chemische Konstitution und Zellstreckungswirkung. Versuch einer allgemeinen Wirkstoffhypothese. Mh. Chem. 85, 196 (1954).

[4] *H. Linser* und *K. Kaindl*, The Mode of Action of Growth Substances and Growth Inhibitors. Science (N. Y.) 114, 69 (1951).

wurde ein ähnlicher Versuch unternommen, doch beschränkte sich das damals benützte Material nur auf wenige Stoffe [hauptsächlich Indol-3-essigsäure (I-3-E) und Eosin]. Inzwischen wurde umfangreiches Material erarbeitet[3], welches im Verein mit neuen Gedankengängen eine bessere Deutung der Konzentrations-Wirkungskurven von Wuchsstoffen ermöglicht als bisher. Die Allgemeinheit der im zugrunde gelegten Modellbild[3] gewählten Formulierungen bietet dabei eine Hypothese, welche über den Bereich der Zellstreckungswuchsstoffe hinaus auch ganz generell für Wirkstoffe und ihre Systeme gültig sein kann.

Nach *Linser*s Vorstellung besteht ein Wirkstoffmolekül ganz allgemein aus mehreren chemischen Gruppen:

1. Aus einer Gruppe, welche das Zellstreckungswachstum fördert und die er als *W*-Gruppe bezeichnet.
2. Aus einer Gruppe, welche das Zellstreckungswachstum hemmt (*H*-Gruppe).
3. Aus einer Gruppe, mit der sich das Molekül so an das lebende System anlagern kann, daß die *W*-Gruppe zur Wirkung gelangt und die mit *w* bezeichnet wird.
4. Aus einer Haftgruppe *h*, welche die *H*-Gruppe wirksam werden läßt.

Abb. 1. Schema eines Wirkstoffmoleküls. *W* = fördernde Gruppe, *w* = zugehörige Haftgruppe; *H* = hemmende Gruppe, *h* = zugehörige Haftgruppe.

Ein Schema dieses Modellmoleküls gibt Abb. 1. Natürlich kann die eine oder die andere Gruppe fehlen oder es können die Haftgruppen mit den Wirkgruppen identisch sein. Prinzipiell lassen sich aber folgende Möglichkeiten durch die Symbole *W*, *H*, *w*, *h* angeben:

1. Fördernde und hemmende Gruppen sind im Wirkmolekül vorhanden: *WwHh*, *WwHo*, *WoHh*, *WoHo*.
2. Die fördernde Gruppe ist nicht vorhanden: *OwHh*, *OoHh*, *OoHo*.
3. Die hemmende Gruppe ist nicht vorhanden: *WwOh*, *WoOh*, *WoOo*.
4. Weder die fördernde noch die hemmende Gruppe ist vorhanden: *OwOh*, *OwOo*, *OoOh*, *OoOo*.

Diese Vielzahl der Möglichkeiten wird durch spätere Überlegungen eine radikale Einschränkung erfahren.

Aufstellung der Wirkstoff-Funktion.

In jeder Pflanze findet eine eigene Produktion von Wirkstoffmolekülen statt (z. B. I-3-E, Indol-3-acetonitril), die sich mit ihren Haftgruppen

[5] *K. Kaindl*, Zur Wirkungsweise von Wuchs- und Hemmstoffen. II. Versuch einer trefferstatistischen Deutung der Wirkung von Wuchs- und Hemmstoffen. Biochim. Biophys. Acta **6**, 395 (1951).

[6] *H. Linser*, Zur Wirkungsweise von Wuchs- und Hemmstoffen. I. Wachstumswirkungen von Indol-3-essigsäure und Eosin sowie pflanzlicher Wuchs- und Hemmstoffe im Gemisch an der Avena Koleoptile. Biochim. Biophys. Acta **6**, 384 (1951).

[7] *K. Kaindl*, Versuch einer biophysikalischen Deutung des Pflanzenwachstums. Biochim. Biophys. Acta **10**, 241 (1953).

an bestimmte Stellen des lebenden Systems — wir wollen diese Stellen wie früher schon als Lücken bezeichnen — mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit, die den quantitativen Ausdruck für die Affinität darstellt, anlagert. Die w- bzw. h-Gruppen der pflanzeneigenen Wirkstoffmoleküle, die von Pflanze zu Pflanze eine andere chemische Konstitution besitzen können und möglicherweise innerhalb ein und derselben Pflanze von verschiedener chemischer Natur sein können, besetzen bis zu einem bestimmten Zeitpunkt eine bestimmte Anzahl entsprechender Lücken (w-Lücken, h-Lücken). Durch diesen Vorgang wird das natürliche Zellstreckungswachstum reguliert, das heißt in einem bestimmten Gleichgewichtszustand gehalten.

Dringt nunmehr ein Fremdwirkstoff in das Pflanzeninnere ein, so stehen diesem entsprechend seiner Konstitution n_{wo} Lücken für die Anlagerung seiner w-Gruppe und n_{ho} Lücken für die Anlagerung seiner h-Gruppe zur Verfügung, in welche diese Gruppen mit den Wahrscheinlichkeiten λ_w bzw. λ_h eintreten. Außerdem sind sie auch gegebenenfalls in der Lage, pflanzeneigene Wirkstoffmoleküle von ihren Plätzen ($\bar{n}_w$ bzw. $\bar{n}_h$) mit einer Wahrscheinlichkeit λ_w' bzw. λ_h' zu verdrängen. Mathematisch läßt sich dieser Sachverhalt folgendermaßen formulieren:

Der Avena-Koleoptile werden durch die Paste m Wirkstoffmoleküle dargeboten, die während der Versuchsdauer (24 Stdn.) eine bestimmte Anzahl der ursprünglich vorhandenen n_{wo} bzw. n_{ho} Lücken schließen, so daß nur mehr n_w bzw. n_h Lücken frei bleiben. Bei einer Dosis von $m + dm$ Molekülen bleiben noch $n_w - dn_w$ bzw. $n_h - dn_h$ Lücken offen.

Lagert sich ein Wirkstoffmolekül mit der Wahrscheinlichkeit λ_w bzw. λ_h in die entsprechende Lücke ein, so muß gelten

$$-dn_{w,h} = \lambda_{w,h} \cdot n_{w,h}\, dm.$$

Die Lösung dieser Differentialgleichung liefert dann für die Anzahl der Anlagerungen die beiden Beziehungen

$$n_{wo} - n_w = n_{wo}\,(1 - e^{-\lambda_w m})$$

bzw.

$$n_{ho} - n_h = n_{ho}\,(1 - e^{-\lambda_h m}).$$

Die Wirkung, welche die einzelne Anlagerung auf das Zellstreckungswachstum ausübt, wollen wir mit c_w bzw. c_h bezeichnen, so daß durch diese die Wachstumsänderung Δw mit

$$\Delta w = c_w\, n_{wo}\,(1 - e^{-\lambda_w m}) - c_h\, n_{ho}\,(1 - e^{-\lambda_h m})$$

gegeben ist. Dazu treten nun noch die Verdrängungsterme. Durch die pflanzeneigenen Wirkstoffe seien $\bar{n}_{wo}$ bzw. $\bar{n}_{ho}$ Lücken besetzt. Ein Fremdmolekül besitzt nun eine gewisse Wahrscheinlichkeit λ_w' bzw. λ_h' das pflanzeneigene Wirkstoffmolekül von seiner Position zu verdrängen.

Gleiche Überlegungen wie oben führen dann zu den analogen Beziehungen für die Verdrängungen:

$$\bar{n}_{wo} - \bar{n}_w = \bar{n}_{wo}\,(1 - e^{-\lambda' w\, m})$$

bzw.

$$\bar{n}_{ho} - \bar{n}_h = \bar{n}_{ho}\,(1 - e^{-\lambda' h\, m}).$$

Die Wirkung der pflanzeneigenen Stoffe auf das Zellstreckungswachstum sei durch $\bar{c}_w$ bzw. $\bar{c}_h$ für die einzelne Anlagerung gegeben und somit ist der Effekt der Verdrängungen hinsichtlich der Wachstumsveränderung gegeben durch

$$(c_w - \bar{c}_w)\,\bar{n}_{wo}\,(1 - e^{-\lambda' w\, m}) - (c_h - \bar{c}_h)\,\bar{n}_{ho}\,(1 - e^{-\lambda' h\, m}).$$

Aus den bisherigen Überlegungen folgt somit, daß für die Wachstumsänderung die Beziehung

$$\Delta w = c_w\, n_{wo}\,(1 - e^{-\lambda_w m}) + (c_w - \bar{c}_w)\, n_{wo}\,(1 - e^{-\lambda' w\, m}) -$$
$$- c_h\, n_{ho}\,(1 - e^{-\lambda_h m}) - (c_h - \bar{c}_h)\,\bar{n}_{ho}\,(1 - e^{-\lambda' h\, m}) \qquad (1$$

gelten muß.

Gehen wir von der Wachstumsveränderung Δw auf die proportionale Längenänderung der Avena-Koleoptile über und drücken diese, wie bei der Pastenmethode üblich, in Prozenten Z des Normalwachstums w_o während der Versuchsdauer aus, so gilt

$$Z = C\,\frac{w}{w_o} \cdot 100.$$

Setzt man nunmehr der Reihe nach

$$\frac{100\,C}{w_o}\,c_w\,n_{wo} = A_1, \qquad \frac{100\,C}{w_o}\,(c_w - \bar{c}_w)\,\bar{n}_{w0} = A_2,$$
$$\frac{100\,C}{w_o}\,c_h\,n_{ho} = B_1, \qquad \frac{100\,C}{w_o}\,(c_h - \bar{c}_h)\,\bar{n}_{ho} = B_2 \qquad (2$$

und führt statt der Molekülzahl m die Prozentkonzentration c durch die Beziehung

$$\lambda\, m = k\, c \qquad (2a$$

ein, so tritt für die Beziehung (1) der Ausdruck

$$Z = A_1\,(1 - e^{-k_w c}) + A_2\,(1 - e^{-k' w\, c}) - B_1\,(1 - e^{-k_h c}) -$$
$$- B_2\,(1 - e^{-k' h\, c}). \qquad (3$$

Die Parameter der Wirkstoff-Funktion.

Die Durchsicht des experimentellen Materials, wie es *Linser*[3] in Form charakteristischer Konstanten (für etwa 50 verschiedene Stoffe) nieder

gelegt hat, gestattet nunmehr einige allgemeine Regeln für die in (3) auftretenden Konstanten aufzustellen.

1. Ein Wirkstoffmolekül zeigt stets eine hemmende Komponente, während die fördernde auch zu Null degenerieren kann. Dies bedeutet, daß $A_1 \geqslant 0$, $B_1 > 0$ oder im vorher benützten Symbolsystem $W \geqslant 0$, $H \neq 0$.

2. Legt man die hypothetische Annahme zugrunde, daß die Wirksamkeit eines Fremdmoleküls niemals die Wirksamkeit der pflanzeneigenen Wirkmoleküle übertreffen kann ($c_w \leqslant \bar{c}_w$, $c_h \leqslant \bar{c}_h$), dann folgt wegen (1), (2) und (3), daß $A_2 \leqslant 0$, $B_2 \leqslant 0$.

3. Es ist im allgemeinen nicht zu erwarten, daß der Summeneffekt des in optimaler Konzentration eingebrachten Fremdmoleküls $[c_w\,(n_{wo} - n_w),\ c_h\,(n_{ho} - n_h)]$ tiefer liegt als der durch die Verdrängung hervorgerufene Differenzeffekt $[(c_w - \bar{c}_w)\,(\bar{n}_{wo} - \bar{n}_w),\ (c_h - \bar{c}_h)\,(\bar{n}_{ho} - \bar{n}_h)]$, da ja für hohe Konzentrationen n_w, n_h, $\bar{n}_w$, $\bar{n}_h$ gegen Null gehen und wegen der relativ niedrigen Konzentration des pflanzeneigenen Wirkstoffes auch die besetzten Lückenzahlen $\bar{n}_{wo}$, $\bar{n}_{ho}$ klein gegenüber n_{wo}, n_{ho} sein dürften. Daraus folgt wegen (1), (2) und (3), daß $|A_1| \geqslant |A_2|$, $|B_1| \geqslant |B_2|$.

4. Die 100%ige Hemmung des Wachstums kann prinzipiell sowohl bei einer endlichen wie auch bei einer theoretisch unendlich hohen Dosis m erzielbar sein. Ferner ist es auch möglich, daß trotz $m = \infty$ das Wachstum nicht völlig gehemmt werden kann. Selbstverständlich sind solche Überlegungen nur zulässig, wenn bei der Verabreichung hoher Dosen von Wirkstoffmolekülen nicht schon unphysiologische Vergiftungserscheinungen (unspezifische Anlagerungen an beliebigen Stellen des lebenden Systems) eintreten. Führten noch frühere Überlegungen[4,5] an Wirkstoffen zu der Annahme, daß auch schon relativ kleine Dosen von pflanzeneigenen Wirkstoffen (I-3-E) zu einer totalen Hemmung führen, so konnte diese zusätzliche Annahme auf Grund der hier entwickelten Interpretation fallen gelassen und $|Z| < 100\%$ für theoretisch $m = \infty$ angenommen werden. Aus (1) und (3) ergibt sich somit, daß $100 \geqslant |A_1 + A_2 - B_1 - B_2|$.

5. Die Verdrängung des natürlichen Wirkstoffes aus seinen Lücken kann mit keiner größeren Wahrscheinlichkeit als die Anlagerung an die offenen Lücken erfolgen. Diese Annahme bedeutet, daß $k_w' \leqslant k_w$, $k_h' \leqslant k_h$.

6. Der hemmende Effekt der pflanzeneigenen Wirkstoffmoleküle dürfte wohl als Nebeneffekt zu bewerten sein und es ist daher zu erwarten, daß die Verdrängung aus den Hemmlücken mit einer größeren Wahrscheinlichkeit erfolgt als diejenige aus den Wuchslücken. Dies würde bedeuten, daß $k_w' < k_h'$.

7. Wenn $A_1 = 0$ ist, so bedeutet dies wegen (2), daß entweder die Anlagerung unwirksam ist ($c_w = 0$) oder daß keinerlei Lücken für die Anlagerung vorliegen ($n_{wo} = 0$). Letzteres besagt aber dann gleichzeitig,

daß die Anlagerungswahrscheinlichkeit λ_w bzw. $k_w = 0$ ist. Fällt also in der Funktion (3) der erste Term weg, so kann entweder $c_w = 0$ oder $k_w = 0$ sein. Ist $c_w = 0$, so müßte im 2. Term A_2 durch die Wirksamkeit $\bar{c}_w$ des pflanzeneigenen Wirkstoffes bestimmt sein, der von einer unwirksamen Substanz verdrängt wurde. Ist $k_w = 0$, so ist es wahrscheinlich, daß auch der 2. Term wegfällt, da dann wegen 5. auch $k_w' = 0$ sein dürfte. Das Wegfallen des 1. Terms und das Bestehen des 2. Terms legt daher nahe, daß A_2 durch $\bar{c}_w$ allein bestimmt ist. Da $B_1 \neq 0$ ist und die unspezifischere Hemmanlagerung $k_h \neq 0$ aufweist, so könnte der 4. Term nur wegen $k_h' = 0$ entfallen.

8. Als letztes erhebt sich die Frage, welche Wirkungen ein pflanzeneigener Wirkstoff ausüben kann. So weit unsere Kenntnisse heute reichen, können wir aussagen, daß die pflanzeneigenen Stoffe indolartige Strukturen besitzen, wobei zu vermuten ist, daß die jeweiligen spezifischen Strukturen von der Pflanzenart abhängig sind. Wenn beispielsweise die Avena-Koleoptile den Indolkörper X erzeugt, so lagert sich dieser, wie besprochen, in die entsprechenden Lücken ein, wobei naturgemäß diese nicht so konform sind, daß jedesmal mit der gleichen Wahrscheinlichkeit (= Affinität) die Bindung von X erfolgt. Unsere Wahrscheinlichkeitsgrößen drücken nur die durchschnittlichen Werte aus.

Führt man einer Pflanze von außen einen anderen Indolkörper zu, so ist es denkbar, daß dieser bei der Verdrängung der lockerer gebundenen X-Körper Wirkungen auslöst, die diejenigen von X in dieser Position gleichkommen oder übertreffen. Aus diesen Überlegungen heraus kann man erwarten, daß bei der Zuführung z. B. von I-3-E Verdrängungsterme auftreten, für die A_2 und B_2 gleich oder größer Null sind, d. h. Punkt 2 unserer Regeln kann in diesem Fall durchbrochen werden. Ferner ist auch zu erwarten, daß die Verdrängungswahrscheinlichkeit in Bezug auf die W-Lücken (k_w') höher liegt als diejenige für die H-Lücken (k_h'), eben weil es sich hier um Körper handelt, die bevorzugt mit der Haftgruppe w sich an das lebende System binden.

Zusammenfassend läßt sich auf Grund dieser Vorstellungen sagen, daß bei indolartigen Körpern mit einer bezüglich Punkt 2 und 6 anderen Verhaltensweise zu rechnen ist als bei beliebigen anderen Fremdstoffen. Ja man könnte sogar den Schluß der Umkehrung ziehen, daß Wirkstoffe, welche die Forderungen von den Punkten 2 und 6 durchbrechen, Substanzen darstellen, die von der lebenden Pflanze als Zellstreckungswirkstoffe produziert werden, wobei es nicht ins Gewicht fällt, ob gerade die Pflanze, an der der Test erfolgt, diesen Körper auch tatsächlich synthetisiert. Man könnte solche Stoffe als Wuchsstoffe 1. Ordnung bezeichnen.

Rein formal kann man somit als Wuchsstoffe 1. Ordnung Wirkstoffe bezeichnen, deren wachstumsverändernde Wirkung in Abhängigkeit von

der Konzentration des Wirkstoffes sich als eine Funktion vom Typus (3) darstellen läßt, wobei

$$1.\ A_1 > B_1,\ k_w \lesseqgtr k_h$$
$$2.\ A_1 < B_1,\ k_w > k_h$$

ist und $A_2 \geqslant 0$, $B_2 \geqslant 0$ und $k_w' > k_h'$ gelten muß.

Als Wuchsstoffe 2. Ordnung treten Wirkstoffe auf, die beim gleichen funktionellen Typus und bei den gleichen Bedingungen 1. und 2. die Relationen $A_2 < 0$, $B_2 < 0$, $k_w' < k_h'$ aufweisen.

In der Praxis ist die Unterscheidung dieser beiden Wuchsstofftypen nur in Ausnahmefällen möglich, nämlich dann, wenn auch $k_w' > k_h$ ist. Ein Beispiel möge dies erläutern:

Die Funktion

$$Z = 80\,(1 - e^{-100\,c}) + 50\,(1 - e^{-c}) - 200\,(1 - e^{-10\,c}) - 30\,(1 - e^{-0{,}1\,c}) \quad (4)$$

stellt sowohl einen Wuchsstoff 1. Ordnung als auch 2. Ordnung dar, da man ja den 2. und 4. Term vertauschen kann. Wenn aber eine Funktion die Form

$$Z = 80\,(1 - e^{-100\,c}) + 50\,(1 - e^{-20\,c}) - 200\,(1 - e^{-10\,c}) - 30\,(1 - e^{-0{,}1\,c}) \quad (5)$$

besitzt, so kann man nicht mehr Term 2 und 4 tauschen, da dann gegen die Regel, daß $k_h \geqslant k_h'$, verstoßen werden würde. In diesem Fall ist eben $k_w' > k_h$ und es liegt eindeutig ein Wuchsstoff 1. Ordnung vor. Folgende Einteilung könnte somit zum Vorschlag gebracht werden:

Wuchsstoffe allgemein: $A_1 > B_1$, $k_w \lesseqgtr k_h$ oder $A_1 < B_1$, $k_w > k_h$.
1. Ordnung: $A_2 \geqslant 0$, $B_2 \geqslant 0$, $k_w' > k_h > k_h'$.
2. Ordnung: $A_2 < 0$, $B_2 < 0$, $k_w' < k_h'$.
Hemmstoffe: $A_1 = 0$ bzw. $k_w = 0$ oder $A_1 < B_1$, $k_w < k_h$.

Hinsichtlich des S. 986 aufgestellten Symbolsystems lassen sich die Wirkstoffe folgendermaßen charakterisieren:

Wuchsstoffe: *WwHh*.

Hemmstoffe: *WwHh (WoHh)*, *OwHh*, *OoHh*, wobei die beiden letzten Symbole nur durch den 2. Term von (3) unterschieden werden können, da eine Verdrängung der pflanzeneigenen Wuchskomponente im allgemeinen nur dann vorliegen kann, wenn eine Haftgruppe *w* vorhanden ist.

Beispiele der Wirkstoff-Funktion.

Im folgenden möge nun an einigen theoretischen Beispielen der Kurvenverlauf für die einzelnen Typen der Wuchs- und Hemmstoffe veranschaulicht werden.

1. Wuchsstoff 1. Ordnung: Abb. 2 zeigt den Verlauf der Funktion (5), Symbol *WwHh*.

2. Wuchsstoff 2. Ordnung: Abb. 3 zeigt den Verlauf der Funktion (4), Symbol *WwHh*.

3. Hemmstoff mit dem Symbol *WwHh*:

$$Z = 50\,(1 - e^{-10\,c}) - 10\,(1 - e^{-c}) - 100\,(1 - e^{-100\,c}) + 10\,(1 - e^{-50\,c}). \quad (6)$$

Abb. 4 zeigt den Verlauf der Funktion (6).

4. Hemmstoff mit dem Symbol *OwHh*:

$$Z = -10\,(1 - e^{-10\,c}) - 100\,(1 - e^{-100\,c}) + 10\,(1 - e^{-50\,c}). \quad (7)$$

Abb. 5 zeigt den Verlauf der Funktion (7).

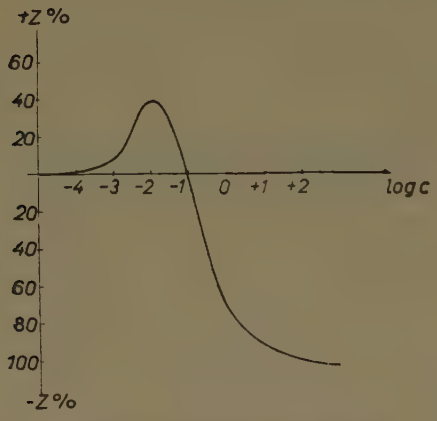


Abb. 2. Konzentrations-Wirkungskurve eines Wuchsstoffes 1. Ordnung. Symboltyp *WwHh*. Abszisse: Log. d. %-Konzentration. Ordinate: prozentuale Längenänderung.

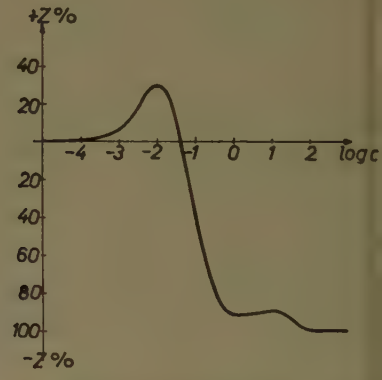


Abb. 3. Konzentrations-Wirkungskurve eines Wuchsstoffes 2. Ordnung. Symboltyp *WwHh*. Abszisse: Log. d. %-Konzentration. Ordinate: prozentuale Längenänderung.

5. Hemmstoff mit dem Symbol *OoHh*

$$Z = -100\,(1 - e^{-100\,c}) + 10\,(1 - e^{-50\,c}). \quad (8)$$

Abb. 6 zeigt den Verlauf der Funktion (8).

6. Hemmstoff mit dem Symbol *OoHh*, wobei der Verdrängungsterm der Hemmkomponente wegfällt ($k_h' = 0$)

$$Z = -100\,(1 - e^{-100\,c}). \quad (9)$$

Abb. 7 zeigt den Verlauf der Funktion (9).

Wir können an den Kurvenbildern erkennen, daß weder zwischen den Wuchsstoffen noch zwischen den Hemmstoffen im ersten Blick eine Unterscheidung durchgeführt werden kann, zu welchem Typ sie gehören. Erst eine genaue mathematische Analyse kann eine nähere Charakterisierung bewirken.

Funktionen experimenteller Wirkstoffkurven.

Zahlreiche Substanzen wurden von *Linser* mit Hilfe seines Pastentestes eingehend untersucht und die experimentellen Wirkungskurven (Wachstumsänderung in Abhängigkeit vom Logarithmus der Prozent- bzw. der

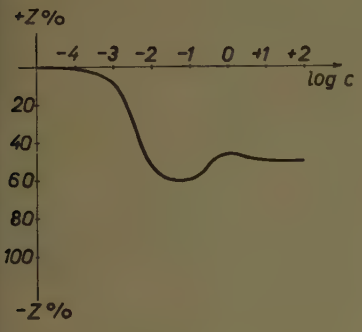


Abb. 4. Konzentrations-Wirkungskurve eines Hemmstoffes. Symboltyp *WwHh*. Abszisse: Log. d. %-Konzentration. Ordinate: prozentuale Längenänderung.

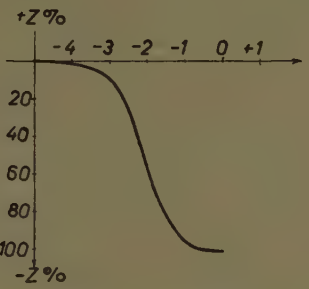


Abb. 5. Konzentrations-Wirkungskurve eines Hemmstoffes. Symboltyp *OwHh*. Abszisse: Log. d. %-Konzentration. Ordinate: prozentuale Längenänderung.

Molkonzentration) durch charakteristische Konstanten festgehalten[3]. Einzelne dieser Kurven wurden herausgegriffen und einer mathematischen Analyse unterworfen, wobei die experimentellen Z-Werte mit maximal

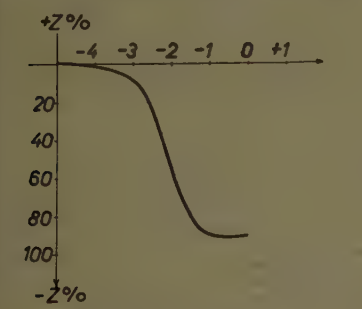


Abb. 6. Konzentrations-Wirkungskurve eines Hemmstoffes. Symboltyp *OoHh*. Abszisse: Log. d. %-Konzentration. Ordinate: prozentuale Längenänderung.

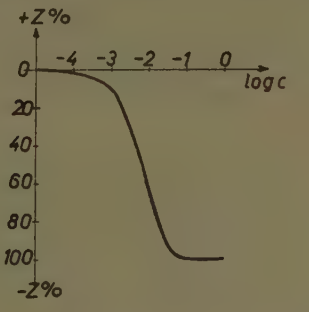


Abb. 7 Konzentrations-Wirkungskurve eines Hemmstoffes. Symboltyp *OoHh*. Abszisse: Log. d. %-Konzentration. Ordinate: prozentuale Längenänderung.

10%iger Schwankung angenommen wurden. Durch Näherungsverfahren wurden die Konstanten der Funktion (3) ermittelt.

Durch die experimentellen Schwankungen ist naturgemäß bedingt, daß die Anwendung von Näherungsverfahren zu verschiedenen Lösungen führen kann. Es wurde jeweils eine der möglichen Lösungen angegeben,

wobei als Kriterium für die Auswahl erstens die aufgestellten allgemeinen Regeln und zweitens die möglichst genaue Wiedergabe der Mittelwerte ohne Rücksicht auf die Breite der Schwankungen diente. Eine Verbesserung der experimentellen Resultate etwa durch Auswertung eines größeren statistischen Materials kann natürlich zu Mittelwertsverschiebungen führen, die auch eine Veränderung der Parameter von (3) mit sich bringt.

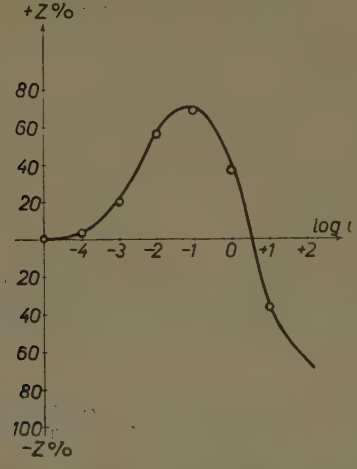


Abb. 8. Verlauf der theoretischen Konzentrations-Wirkungskurve von Indol-3-essigsäure [nach Funktion (10)]. *o* ... experimentelle Daten. Abszisse: Log. d. %-Konzentration. Ordinate: prozentuale Längenänderung.

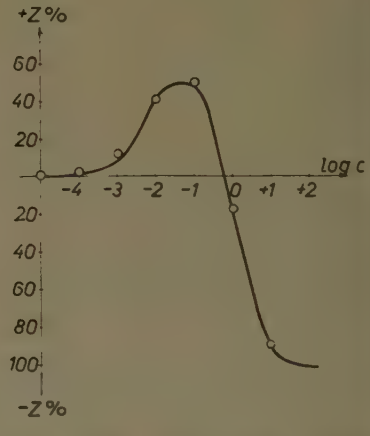


Abb. 9. Verlauf der theoretischen Konzentrations-Wirkungskurve von α-Naphtylessigsäure [nach Funktion (11)]. *o* ... experimentelle Daten. Abszisse: Log. d %-Konzentration. Ordinate: prozentuale Längenänderung.

1. Indol-3-essigsäure.

Während noch in einer früheren Arbeit[4,5] mit dem einfacheren Modellbild ohne Verdrängungsterme gearbeitet wurde und es sich daher als notwendig erwies anzunehmen, daß die Hemmstoffkomponente schon bei relativ niedrigen Konzentrationen einen Zusammenbruch des lebenden Systems bewirkt, konnte nunmehr diese Annahme fallen gelassen werden. Das Näherungsverfahren zeigt, daß die Funktion

$$Z = 45\,(1 - e^{-590\,c}) + 30\,(1 - e^{-50\,c}) - 110\,(1 - e^{-0{,}38\,c}) - 65\,(1 - e^{-0{,}006\,c}) \quad (10$$

Z-Werte liefert, die in befriedigender Übereinstimmung mit den von *Linse* angegebenen experimentellen Daten sind, wie Tabelle 1 zeigt.

Tabelle 1.

%-Konz. *c* / *Z*	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^{0}	10^{1}	10^{2}
exp. *(Linser)*	1	4	20	56	69	37	— 36	—
theor. (10)	0	3	22	57	71	40	— 37	— 6

Vergleich der experimentellen und der aus (10) errechneten Z-Werte (prozentuale Längenänderung) für I-3-E.

Aus der Funktion (10) ist zu ersehen, daß es sich erwartungsgemäß um einen Wuchsstoff 1. Ordnung handelt, da $A_1 = 45 < B_1 = 110$, $k_w = 590 > k_h = 0{,}38$ und $A_2 = 30 > 0$, $B_2 = 65 > 0$, $k_w' = 50 > k_h = 0{,}38 > k_h' = 0{,}006$ ist. Der Symboltypus ist *WwHh*.

In Abb. 8 ist die zugehörige Kurve wiedergegeben und sind die experimentellen Werte als kleine Kreise eingezeichnet. Der Auslauf der Kurve ist ungesichert, da für hohe Konzentrationen keine experimentellen Werte vorliegen (siehe Tabelle 1).

2. α-Naphtylessigsäure.

Bei diesem Wirkstoff liefert das Näherungsverfahren die Funktion

$$Z = 60\,(1 - e^{-130\,c}) - 25\,(1 - e^{-0{,}08\,c}) - 150\,(1 - e^{-0{,}8\,c}) + 15\,(1 - e^{-0{,}7\,c}). \quad (11)$$

Wie Tabelle 2 zeigt, liegen die Z-Werte in guter Übereinstimmung mit den experimentellen Daten.

Tabelle 2.

%-Konz. c / Z	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^{0}	10^{1}	10^{2}
exp. *(Linser)*	0	2	12	41	50	— 17	—	—
theor. (11)	0	1	7	42	49	— 17	— 89	—100

Vergleich der experimentellen und der aus (11) errechneten Z-Werte (prozentuale Längenänderung) für α-Naphtylessigsäure.

Hier liegt ein Wuchsstoff 2. Ordnung vor, da $A_1 = 60 < B_1 = 150$, $k_w = 130 > k_h = 0{,}8$ und $A_2 = -25 < 0$, $B_2 = -15 < 0$, $k_w' = 0{,}08 < k_h' = 0{,}7$. Der Symboltypus ist *WwHh*.

Abb. 9 zeigt den Verlauf von (11) und die als kleine Kreise eingezeichneten experimentellen Werte. Auch hier ist das Kurvenende ungesichert, da dafür keine experimentellen Werte vorliegen.

3. 4,6-Dinitro-o-kresol.

Bei diesem Wirkstoff paßt sich die Funktion

$$Z = 15\,(1 - e^{-15\,000\,c}) - 7\,(1 - e^{-0{,}5\,c}) - 110\,(1 - e^{-80\,c}) + 2\,(1 - e^{-50\,c}) \quad (12)$$

den experimentellen Daten befriedigend an, wie Tabelle 3 zeigt.

Tabelle 3.

%-Konz. c / Z	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^{0}	10^{1}
exp. *(Linser)*	2	11	6	— 43	— 93	— 96	—
theor. (12).....	2	11	7	— 45	— 93	— 97	—100

Vergleich der experimentellen und der aus (12) errechneten Z-Werte (prozentuale Längenänderung) für 4,6-Dinitro-o-kresol.

Auch hier liegt ein Wuchsstoff 2. Ordnung vor, da $A_1 = 15 < B_1 = 110$, $k_w = 15000 > k_h = 80$ und $A_2 = -7 < 0$, $B_2 = -2 < 0$, $k_w' = 0{,}5 < k_h' = 50$. Der Symboltypus ist *WwHh*.

Abb. 10 zeigt den Verlauf der Funktion (12) und die als kleine Kreise eingezeichneten experimentellen Werte.

4. Pentachlorphenol.

Die Funktion

$$Z = 28\,(1 - e^{-100\,c}) - 25\,(1 - e^{-1{,}8\,c}) - 135\,(1 - e^{-16\,c}) + 38\,(1 - e^{-2\,c}) \qquad (13)$$

bringt wieder eine gute Übereinstimmung mit den experimentellen Daten, wie Tabelle 4 zeigt.

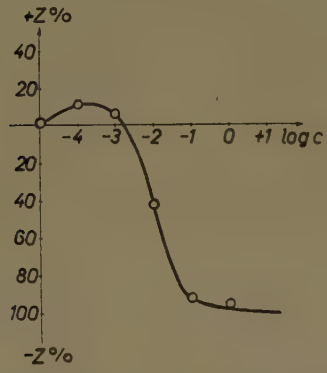


Abb. 10. Verlauf der theoretischen Konzentrations-Wirkungskurve von 4,6-Dinitro-o-kresol [nach Funktion (12)]. *o* ... experimentelle Daten. Abszisse: Log. d.%-Konzentration. Ordinate: prozentuale Längenänderung.

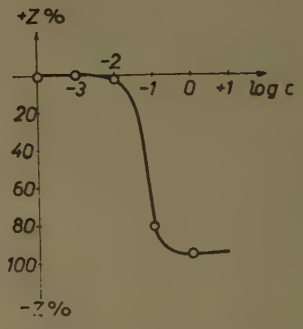


Abb. 11. Verlauf der theoretischen Konzentrations-Wirkungskurve von Pentachlorphenol [nach Funktion (13)]. *o* ... experimentelle Daten. Abszisse: Log. d. %-Konzentration. Ordinate: prozentuale Längenänderung.

Tabelle 4.

Z \ %-Konz. c	10^{-2}	10^{-1}	10^{0}	10^{1}	10^{2}
exp. *(Linser)*	0	— 2	— 80	— 94	—
theor. (13)	1	— 2	— 77	— 95	— 94

Vergleich der experimentellen und der aus (13) errechneten Z-Werte (prozentuale Längenänderung) für Pentachlorphenol.

Ebenfalls liegt hier ein Wuchsstoff 2. Ordnung vor, da $A_1 = 28 < B_1 = 135$, $k_w = 100 > k_h = 16$ und $A_2 = -25 < 0$, $B_2 = -38 < 0$, $k_w' = 1{,}8 < k_h' = 2{,}0$. Der Symboltypus ist *WwHh*.

Abb. 11 zeigt den Verlauf von (13) und die als kleine Kreise eingezeichneten experimentellen Werte.

5. Eosin.

Die Funktion

$$Z = -27\,(1 - e^{-19\,c}) - 100\,(1 - e^{-900\,c}) + 44\,(1 - e^{-800\,c}) \qquad (14)$$

erfaßt in guter Übereinstimmung die experimentellen Daten, wie Tabelle 5 zeigt.

Tabelle 5.

Z \ %-Konz. c	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^{0}
exp. *(Linser)*	—	— 5	— 35	— 61	— 79	— 82
theor. (14)	— 0,5	— 5	— 35	— 61	— 79	— 83

Vergleich der experimentellen und der aus (14) errechneten Z-Werte (prozentuale Längenänderung) für Eosin.

Da der 1. Term in (14) entfällt, so liegt ein Hemmstoff vor. Wegen Regel 7 könnte dies bedeuten, daß $c_w = 0$ ist, das heißt $A_1 = 0$. Dies soll später näher diskutiert werden. Der Symboltypus ist dann *OwHh*.

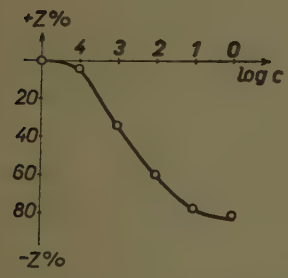


Abb. 12. Verlauf der theoretischen Konzentrations-Wirkungskurve von Eosin [nach Formel (14)]. *o* ... experimentelle Daten. Abszisse: Log. d. %-Konzentration. Ordinate: prozentuale Längenänderung.

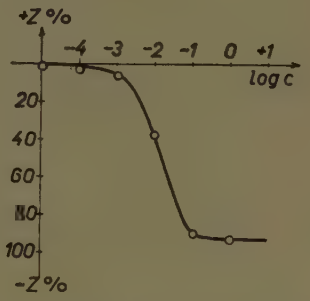


Abb. 13. Verlauf der theoretischen Konzentrations-Wirkungskurve von Dinitro-o-sec. butylphenol [nach Funktion (15)]. *o*... experimentelle Daten. Abszisse: Log. d. %-Konzentration. Ordinate: prozentuale Längenänderung.

Abb. 12 zeigt den Verlauf von (14) und die als kleine Kreise eingezeichneten experimentellen Werte.

6. Dinitro-o-sec. butylphenol.

Die Funktion

$$Z = -27\,(1 - e^{-3{,}5\,c}) - 100\,(1 - e^{-50\,c}) + 33\,(1 - e^{-7\,c}) \qquad (15)$$

liefert wieder eine gute Übereinstimmung mit den experimentellen Daten, wie Tabelle 6 zeigt.

Tabelle 6.

Z \ %-Konz. c	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^{0}	10^{1}
exp. *(Linser)*	— 1	— 3	— 6	— 38	— 90	— 93	—
theor. (15).....	0	— 1	— 5	— 39	— 90	— 93	— 94

Vergleich der experimentellen und der aus (15) errechneten Z-Werte (prozentuale Längenänderung) für Dinitro-o-sec. butylphenol.

Analog wie bei Eosin liegt auch hier ein Hemmstoff $A_1 = 0$ vor, der den Symboltypus *OwHh* besitzt.

Abb. 13 zeigt den Verlauf von (15) und die als kleine Kreise eingezeichneten experimentellen Werte.

Diskussion.

Die Gesamtwirkung eines Wirkstoffes auf das Zellstreckungswachstum wird durch 3 Parameter erfaßt:

1. Die Wirksamkeit einer Einlagerung in die entsprechende Lücke (c_w, c_h).
2. Die Anzahl der Lücken, in die eine derartige Einlagerung erfolgen kann (n_{wo}, n_{ho}).
3. Die Wahrscheinlichkeit, mit der eine solche Einlagerung erfolgt (λ_w, λ_h).

Ad 1.: Machen wir die Annahme, daß das Wegfallen des 1. Terms in (14) und (15) auf die Unwirksamkeit der Lückenbesetzung zurückzuführen ist, daß also $c_w = 0$ ist. Auf Grund der Formeln (2) ergibt sich dann, daß

$$-27 = \frac{100\,C}{w_o}(-\bar{c}_w)\,\bar{n}_{wo}.$$

Setzt man die Abkürzung

$$f = \frac{w_o}{100\,C},$$

so folgt, daß

$$\bar{c}_w = \frac{27}{\bar{n}_{wo}} \cdot f \qquad (16)$$

Bezeichnet man mit $c_w{}^I$ die Wuchswirksamkeit eines I-3-E-Moleküls, wenn es sich in die entsprechende Lücke einlagert, so ergibt sich aus der Funktion (10) und den Formeln (2) die Beziehung

$$c_w{}^I - \bar{c}_w = \frac{30}{\bar{n}_{wo}} \cdot f$$

Unter Verwendung von (16) erhält man somit

$$c_w{}^I = \frac{57}{\bar{n}_{wo}} \cdot f. \qquad (17)$$

In analoger Weise läßt sich mit Hilfe von (2) und (16) die Wuchswirksamkeit $c_w{}^N$ der α-Naphtylessigsäure aus dem 2. Term von (11) errechnen:

$$c_w{}^N = \frac{2}{\bar{n}_{wo}} \cdot f. \qquad (18)$$

Ebenso ergibt sich für die Wuchswirksamkeit $c_w{}^D$ des 4,6-Dinitro-o-kresols aus (12)

$$c_w{}^D = \frac{20}{\bar{n}_{wo}} \cdot f. \qquad (19)$$

Schließlich erhält man für die Wuchswirksamkeit des Pentachlorphenols

$$c_w{}^P = \frac{2}{\bar{n}_{wo}} \cdot f. \tag{20}$$

Aus (17), (18), (19) und (20) folgt somit die Proportion

$$c_w{}^I : c_w{}^N : c_w{}^D : c_w{}^P = 57 : 2 : 20 : 2, \tag{21}$$

woraus unmittelbar zu ersehen ist, daß die pflanzeneigene Substanz I-3-E die höchste molekulare Wirksamkeit besitzt. Dies soll nicht besagen, daß es nicht noch wirksamere pflanzeneigene Substanzen gibt. So liegt beispielsweise im Indol-3-acetonitril eine noch wirksamere Verbindung vor, doch sind die experimentellen Untersuchungen dieser Substanz noch nicht vollständig abgeschlossen, so daß sie noch nicht für die vorliegenden Betrachtungen herangezogen werden konnte.

Da sich aus den Wirkstoff-Funktionen der $\bar{c}_h$-Wert nicht direkt errechnen läßt, ist man genötigt eine Abschätzung durchzuführen. Legt man hypothetisch die Annahme zugrunde, daß bei pflanzeneigenen Wirkstoffen die molekularen Wuchs- und Hemmwirksamkeiten einander proportional sind, so läßt sich schreiben, daß

$$\bar{c}_h : \bar{c}_w = c_h{}^I : c_w{}^I.$$

Auf Grund von (16), (17) und der 4. Term von Funktion (10) gilt dann weiter

$$\bar{c}_h : \frac{27}{\bar{n}_{wo}} \cdot f = \left(\bar{c}_h + \frac{65}{\bar{n}_{ho}} \cdot f\right) : \frac{57}{\bar{n}_{wo}} \cdot f.$$

Daraus errechnet sich

$$\bar{c}_h = \frac{59}{\bar{n}_{ho}} \cdot f. \tag{22}$$

Aus dem 4. Term von (10) und (22) folgt daraus für die Hemmwirksamkeit des I-3-E-Moleküls

$$\bar{c}_h{}^I = \frac{124}{\bar{n}_{ho}} \cdot f. \tag{23}$$

Aus (11) und (22) für das α-Naphtylessigsäure-Molekül

$$c_h{}^N = \frac{44}{\bar{n}_{ho}} \cdot f, \tag{24}$$

aus (12) und (22) für 4,6-Dinitro-o-kresol

$$c_h{}^D = \frac{57}{\bar{n}_{ho}} \cdot f, \tag{25}$$

aus (13) und (22) für Pentachlorphenol

$$c_h{}^P = \frac{21}{\bar{n}_{ho}} \cdot f, \tag{26}$$

aus (14) und (22) für Eosin

$$c_h^E = \frac{15}{\bar{n}_{ho}} \cdot f \tag{27}$$

und schließlich aus (15) und (22) für Dinitro-o-sec. butylphenol

$$c_h^B = \frac{26}{\bar{n}_{ho}} \cdot f \tag{28}$$

Mit Hilfe von (23) bis (28) läßt sich die Proportion der Hemmwirkungen anschreiben:

$$c_h^I : c_h^N : c_h^D : c_h^P : c_h^E : c_h^B = 124 : 24 : 57 : 21 : 15 : 26. \tag{29}$$

Daraus ist zu ersehen, daß auch die Hemmwirksamkeit des pflanzeneigenen Stoffes I-3-E die der anderen Stoffe übertrifft.

Das Verhältnis von $c_w : c_h$ liefert ein erstes Maß für den Wuchsstoffcharakter der einzelnen Wirkstoffe. Wählt man in dieser Relation I-3-E als Standard, so ergibt sich die Proportion:

$$\frac{c_w^I}{c_h^I} : \frac{c_w^N}{c_h^N} : \frac{c_w^D}{c_h^D} : \frac{c_w^P}{c_h^P} : \frac{c_w^E}{c_h^E} : \frac{c_w^B}{c_h^B} = 1 : 0{,}1 : 0{,}8 : 0{,}2 : 0 : 0. \tag{30}$$

Es liegt auf der Hand, daß die Verhältniswerte für die Hemmstoffe $= 0$ sind, da ja $c_w = 0$ ist.

Ad 2.: Setzt man die in Formel (17) bis (21) und (23) bis (29) erhaltenen c_w- bzw. c_h-Werte in (2) für die Ausdrücke von A_1 und B_1 ein, so ergibt sich unter Berücksichtigung der in den Funktionen (10) bis (15) erhaltenen A_1- bzw. B_1-Werte bestimmte Beziehungen für die n_{wo} bzw. n_{ho}. Setzt man diese in Proportion, so erhält man:

$$n_{wo}^I : n_{wo}^N : n_{wo}^D : n_{wo}^P = 1 : 38 : 1 : 18 \tag{31}$$

und

$$n_{ho}^I : n_{ho}^N : n_{ho}^D : n_{ho}^P : n_{ho}^E : n_{ho}^B = 1 : 4 : 2 : 7 : 7 : 4. \tag{32}$$

Man kann daraus erkennen, daß die w-Lücken um eine Größenordnung von Substanz zu Substanz schwanken können, während die h-Lücken in der gleichen Größenordnung verbleiben, was ein Hinweis auf ihre unspezifische Struktur ist.

Ad 3.: Die „Brauchbarkeit" der in der lebenden Struktur vorliegenden Lücken hängt von der Wahrscheinlichkeit der Anlagerung ab, die ein Maß für die Affinität zwischen Lücke und Wirkstoffmolekül darstellt. Wie in einer früheren Arbeit[5] gezeigt wurde, läßt sich die Wahrscheinlichkeit durch die Beziehung

$$\lambda = \frac{M \cdot 100 \cdot k}{x} \tag{33}$$

errechnen, wobei M das absolute Molekulargewicht und x die verabreichte Paste in g ($x \sim 2{,}16 \cdot 10^{-3}$ g) sind.

Für I-3-E ist $M = 175 \cdot 1{,}66 \cdot 10^{-24}$. Aus der Formel (10) erhält man $k_w = 590$ und so ergibt sich aus (33)

$$\lambda_w{}^I = 7{,}9 \cdot 10^{-15}, \tag{34}$$

$k_h = 0{,}38$ wegen (10) und es gilt daher

$$\lambda_w{}^I = 5{,}1 \cdot 10^{-18}. \tag{34a}$$

Für α-Naphtylessigsäure ist M $202 \cdot 1{,}66 \cdot 10^{-24}$ und wegen (11) $k_w = 130$. Daraus folgt

$$\lambda_w{}^N = 2{,}0 \cdot 10^{-15}, \tag{35}$$

$k_h = 0{,}8$ wegen (11) und daher

$$\lambda_w{}^N = 1{,}2 \cdot 10^{-17}. \tag{35a}$$

Für 4,6-Dinitro-o-kresol ist M $198 \cdot 1{,}66 \cdot 10^{-24}$ und wegen (12) $k_w = 15000$. Daraus folgt

$$\lambda_w{}^D = 2{,}3 \cdot 10^{-13}, \tag{36}$$

$k_h = 80$ wegen (12) und daher

$$\lambda_h{}^D = 1{,}2 \cdot 10^{-15}. \tag{36a}$$

Für Pentachlorphenol ist M $266 \cdot 1{,}66 \cdot 10^{-24}$ und wegen (13) $k_w = 100$. Daraus folgt

$$\lambda_w{}^P = 2{,}0 \cdot 10^{-15}, \tag{37}$$

$k_h = 16$ wegen (13) und daher

$$\lambda_h{}^P = 3{,}3 \cdot 10^{-16}. \tag{37a}$$

Für Eosin ist $M = 670 \cdot 1{,}66 \cdot 10^{-24}$ und wegen (14) $k_h = 900$. Daraus folgt

$$\lambda_h{}^E = 4{,}2 \cdot 10^{-14}. \tag{38a}$$

Für Dinitro-o-sec. butylphenol ist schließlich M $240 \cdot 1{,}66 \cdot 10^{-24}$ und wegen (15) $k_h = 50$. Daraus folgt

$$\lambda_w{}^B = 9{,}2 \cdot 10^{-16}. \tag{39a}$$

Aus (34) bis (37) ergibt sich für die Anlagerungswahrscheinlichkeiten an die w-Lücken die Proportion

$$\lambda_w{}^I : \lambda_w{}^N : \lambda_w{}^D : \lambda_w{}^P = 1 : 0{,}25 : 29{,}1 : 0{,}25 \tag{40}$$

und aus (34a) bis (39a) für die Anlagerungswahrscheinlichkeiten an die h-Lücken die Proportion

$$\lambda_h{}^I : \lambda_h{}^N : \lambda_h{}^D : \lambda_h{}^P : \lambda_h{}^E : \lambda_h{}^B = 1 : 23{,}5 : 2350 : 647 : 82400 : 1805. \tag{41}$$

Greifen wir nunmehr auf Formel (1) zurück, so können wir die reine Zellstreckungswirksamkeit durch das Produkt $c_w\, n_{wo}\, \lambda_w$ in erster Näherung

ausdrücken. Bezeichnet man dieses Produkt X_w, so ergibt sich aus (21), (31) und (40) die Proportion

$$X_w^I : X_w^N : X_w^D : X_w^P = 1 : 0{,}33 : 0{,}97 : 0{,}16. \quad (42)$$

Für die reine Hemmwirksamkeit hingegen ist das Produkt $Y_h = c_h\, n_{ho}\, \lambda_h$ maßgebend und aus (29), (32) und (41) ergibt sich die Proportion

$$Y_h^I : Y_h^N : Y_h^D : Y_h^P : Y_h^E : Y_h^B = 1 : 32 : 2350 : 794 : 74\,900 : 1640. \quad (43)$$

Als Kriterium für die nun tatsächlich zum Tragen kommende Wuchswirkung kann das Verhältnis der reinen Zellstreckungswirkung und der reinen Hemmwirkung der betreffenden Verbindung dienen. Je größer die fördernden Parameter und je kleiner die hemmenden, desto größer muß der Bruch X/Y werden. Alle Wirkstoffe, die überhaupt keine fördernde Komponente besitzen, also die Hemmstoffe, zeigen naturgemäß den Wert Null für diesen Quotienten, den wir mit Z bezeichnen wollen. Aus (42) und (43) ergibt sich somit für die hier untersuchten Verbindungen als Maß für ihre fördernde Wirksamkeit die Proportion

$$Z^I : Z^N : Z^D : Z^P : Z^E : Z^B = 1 : 0{,}01 : 0{,}0004 : 0{,}0002 : 0 : 0. \quad (44)$$

Dadurch ist wohl deutlich gezeigt, wie die aus den Komponenten resultierende fördernde Wirkung des pflanzeneigenen Wirkstoffes I-3-E die der anderen Substanzen übertrifft und wie ein stetiger Übergang zwischen den sogenannten Wuchs- und den Hemmstoffen bezüglich ihrer auf das Zellstreckungswachstum auftretenden Wirkung vorliegt. Da alle Hemmstoffe das Maß 0 zeigen, so läßt sich die Unterscheidung ihrer hemmenden Wirkung anhand von (43) feststellen, wobei es sich hier beispielsweise zeigt, daß die Hemmwirkung von Eosin rund 50mal größer ist als die von Dinitro-o-sec. butylphenol. Die Abnahme der Zellstreckungswirkung der einzelnen Stoffe zeigt die Proportion (44) in quantitativer Weise, während die Kurvenbilder 8 bis 13 dies qualitativ veranschaulichen.

Die hier auf Grund des Prinzips einer Adsorptionskonkurrenz gegebene Ableitung der Wirkstoff-Funktion, die in ihren Grundlagen schon 1951 von uns publiziert wurde, läßt sich natürlich nicht nur bei den durch den Pastentest erhaltenen Kurven, sondern ebenso bei anderen Testmethoden durchführen. So konnte inzwischen z. B. *Hellström* (1953)[8] die durch *Aberg*[9] im Wurzeltest erhaltenen Wirkkurven auf Grund adsorptiver Vorgänge deuten.

---

[8] *N. Hellström*, An Attempt to Explain the Interaction of Auxin and Antiauxin in Root Growth by an Adsorption Mechanism. Acta Chem. Scand. 7, 461 (1953).

[9] *B. Åberg*, The Interaction of Some Auxin Antagonists and 2,4-D in Root Growth. Physiol. Plant. 4, 627 (1951).

Über die thermische Autoxydation von Sulfit. Wirkungsweise negativer Katalysatoren.

Von

E. Abel*.

(Eingelangt am 5. April 1954.)

Der vom Verfasser angegebene Mechanismus des Autoxydationsvorganges in unbelichtetem wäßrigem System wird in erweitertem Umfange der Sulfitautoxydation zugrunde gelegt. In den Rahmen dieses Mechanismus ordnet sich, wie es scheint, auch die Wirkungsweise negativer Katalysatoren (Inhibitoren) ein.

In einer vorausgehenden Mitteilung[1] habe ich versucht, den Mechanismus der Autoxydation von Sulfit in unbelichtetem wäßrigem System jenem Typus einzugliedern, der auch für andere thermische Autoxydationen in saurer Lösung zu gelten scheint, und der diesfalls in den Reaktionsschritten

$$k;\ O_2 + HSO_3^- \rightleftarrows \bar{O}\cdot O\cdot HSO_3;\ k'$$

$$k_1;\ \bar{O}\cdot O\cdot HSO_3 + SO_3^{2-} \rightarrow HSO_3\cdot SO_3^- + O_2^{2-}$$

und/oder[2]

$$O_2 + SO_3^{2-} \rightleftarrows \bar{O}\cdot O\cdot SO_3^-$$

$$\bar{O}\cdot O\cdot SO_3^- + HSO_3^- \rightarrow HSO_3\cdot SO_3^- + O_2^{2-}$$

---

* 63, Hamilton Terrace, London, N. W. 8.

[1] Mh. Chem, **85**, 722 (1954); siehe auch ebenda **85**, 949 (1954).

[2] Die Koeffizienten k seien der an erster Stelle angeschriebenen Reaktion zugeordnet. — Ob beide Reaktionen parallel verlaufen, läßt sich zur Zeit mangels hinreichenden experimentellen Materials nicht entscheiden; ihr gleichzeitiger Bestand würde zu einer sehr erheblichen Komplikation der geltenden Geschwindigkeitsbeziehungen führen. — Der Koeffizient k_1 decke der Kürze halber auch die Geschwindigkeit bei Ersatz von $\bar{O}\cdot O\cdot HSO_3$ durch $HO\cdot O\cdot HSO_3$.

Tabelle 1.

Autor	pH[6]	Mol/L			$(Mol/L)^2$	$Mol/L \cdot sec^{-1}$	$(Mol/L)^{-1} \cdot sec^{-1}$	$10^5 j$	t° C
		[7] $(SO_3^{2-})_0$	$[SO_3^{2-}]_0$	$[HSO_3^-]_0$	$[SO_3^{2-}]_0 \cdot [HSO_3^-]_0$	[8] v_0	[9] φ		
		10^4						10^2	
R. u. *V.*[3]	4,4		0,0..	100	0,0..	~ 0,003	2,1; 2,4		
	5,5		2	98	0,02	0,03	1,5		
	5,7	100	3	97	0,03	0,04	1,5	?	
	8,0		87	13	0,11	(0,33)	(3)		
	6,4		14	86	0,12	0,12	1,0		
F. u. *C.*[4]	5,79	174	12	162	0,19	0,5	4,4	4,41	25°
R. u. *V.*	6,9	100	66	34	0,22	(0,15)	(0,7)	?	
	6,55	160	30	130	0,39	1,0	4,2	5,15	
F. u. *C.*	7,80	164	132	32	0,42	1,7	4,7	4,76	
	6,89	146	48	97	0,46	1,3	3,8	3,86	
	7,30	160	95	65	0,62	2,0	4,0	4,47	
B.[5]	8,97	6000	5900	100	59	3,9; 5,1	0,066; 0,086	179,5	20°
	7,67	6000	4000	2000	800	7,7	0,0096	170,0	

[3] *W. Reinders* und *S. I. Vles*, Rec. trav. chim. Pays-Bas **44**, 249 (1925).

[4] *E. C. Fuller* und *R. H. Crist*, J. Amer. Chem. Soc. **63**, 1644 (1941).

[5] *H. L. J. Bäckström*, J. Amer. Chem. Soc. **49**, 1460 (1927); Medd. Vetensk. Akad. Nobel Inst. **6**, Nr. 15, 16, 17 (1927); Trans. Faraday Soc. **24**, 601 (1928); Z. physik. Chem., Abt. B **25**, 122 (1934); Naturwiss. **22**, 170 (1934). — *H. N. Alyea* und *H. J. L. Bäckström*, J. Amer. Chem. Soc. **51**, 90 (1929).

[6] Die pH-Werte sind, soweit sie sich auf die Arbeit von *Reinders* und *Vles* beziehen, ihren teils auf Phosphat-, teils auf Acetatpuffer beruhenden Angaben entnommen; die übrigen pH-Werte sind unter Zugrundelegung der Dissoziationskonstante von HSO_3^- berechnet: $K = 6{,}43 \cdot 10^{-8}$ (25°) [*H. V. Tarter* und *H. H. Garretson*, J. Amer. Chem. Soc. **63**, 808 (1941)]. Abhängigkeit der „Konstanten" von der ionalen Konzentration blieb, da kaum mit Sicherheit zu berechnen, unberücksichtigt.

zum Ausdruck kommt; ich wies gleichzeitig darauf hin, daß in diesen Reaktionslinien wohl die *Struktur* des Vorganges zu erblicken wäre, das gesamte Reaktionsgeschehen sich aber in diesen Schritten offenbar nicht erschöpft.

In nebenstehender Tabelle 1 seien jene Ergebnisse zusammengefaßt, die den weiteren Ausführungen zunächst zugrunde liegen; hierbei beschränke ich mich notwendig auf solche Daten, die in unbelichteten, reinen, zusatzfreien Sulfit-Bisulfit-Lösungen unter — soweit ersichtlich — wohldefinierten Verhältnissen und bei möglichster Sorgfalt in Auswahl der Reagenzien und in Durchführung der Versuche erhalten worden sind.

Der Tabelle 1 ist zu entnehmen, daß ungeachtet einer H^+-Ion-Variation im Verhältnis von etwa 1000 : 1 die *Oxydationsgeschwindigkeit* bei einem zwischen 0,01 und 0,02 Mol/l gelegenen Gesamtsulfitgehalt *mit dem Konzentrationsprodukt* $[SO_3^{2-}] \cdot [HSO_3^-]$ — abgesehen von einigen offenbar

[9] φ ist das Verhältnis zwischen Reaktionsgeschwindigkeit v und dem der letzteren zugeordneten $[SO_3^{2-}] \cdot [HSO_3^-]$-Produkt. — Eine gesonderte Berechnungsart für φ erforderten die Angaben von *Reinders* und *Vles*[3]: Diese Autoren bestimmten den Oxydationsgrad in einer Na_2SO_3-Lösung der Konzentration (c) 0,01 molar nach 10 Minuten währender Einwirkung von Sauerstoff. Der in φ zum Ausdruck kommende Zusammenhang zwischen dem $[SO_3^{2-}] \cdot [HSO_3^-]$-Produkt und der Oxydationsgeschwindigkeit v führt für jeweils konstantes $[H^+]$ unter Beachtung der während des Oxydationsfortschrittes wechselnden Substratzusammensetzung zu der Beziehung

$$v = \frac{dx}{dt} = \varphi \frac{K\,[H^+]}{(K + [H^+])^2} (c - x)^2 = \varphi\, \varrho\, (c - x)^2,$$

wenn x die dem Zeitpunkt t zugeordnete Konzentration an gebildetem Sulfat bedeutet, woraus sich für φ aus dem nach 10 Min. beobachteten prozentischen Oxydationsausmaß p

$$\varphi = \frac{1}{10 \cdot 60} \cdot \frac{p}{0{,}01\,(1 - p)\,\varrho}\ [(\text{Mol/L})^{-1}; \text{sec.}^{-1}]$$

berechnet. Die Werte für pH > 8 scheinen — wohl nicht ihrem Verlaufe, aber ihrem Betrage nach — entstellt zu sein; sie sind in der Tabelle nicht aufgenommen.

[10] $j = \frac{1}{2} \sum c\, z^2$, die ionale Konzentration.

zufälligen Ausnahmen — *ansteigt*, und zwar derart, daß das Verhältnis φ zwischen diesen beiden Größen nicht allzu inkonstant ist; man beachte, daß lediglich bei Einstellung des Primärschrittes ins Gleichgewicht Konstanz zu erwarten wäre[11]; auch bedenke man in Zusammenhalt beider Versuchsgruppen (*R.* u. *V.* und *F.* u. *C.*) die völlige Verschiedenheit in den Materialien, in Versuchsanordnung, in Beobachtungsart, die immerhin bestehende Unsicherheit in der Berechnung auf der einen Seite, die Schnelligkeit des Reaktionsablaufes auf der anderen Seite.

Anderseits aber zeigt Tabelle 1, daß bei stark erhöhtem Gesamtsulfitgehalt (0,6 Mol/l)[12] sich die eben genannte Beziehung *nicht* erfüllt zeigt, und daß in diesem Bereiche die Oxydationsgeschwindigkeit, wenn überhaupt[13], so nur eine sehr geringe Bisulfitabhängigkeit aufweist.

Daß das in Tabelle 1 herangezogene Versuchsmaterial nicht ausreichend ist, um den obwaltenden Reaktionsmechanismus im Detail zu entwickeln, ist naheliegend. Immerhin aber scheinen mir

Folgerungen aus der angegebenen Autoxydationsstruktur,

die insbesondere im Falle der Sulfitautoxydation maßgeblich werden können, zur Vervollkommnung des gesamten Reaktionsbildes beizutragen.

I.

Das tiefe Aziditätsniveau, auf dem sich unvermeidlicher Weise die Sulfitautoxydation abspielt, wird fallweise, anschließend an das Reaktionsprodukt O_2^{2-}[14] der Umsetzung

$$\overline{O} \cdot O \cdot HSO_3 + SO_3^{2-} \rightarrow HSO_3 \cdot SO_3^- + O_2^{2-}[15],$$

zu einer *Reaktionsgabelung* führen, in schematischer Darstellung:

$$O_2^{2-} \begin{cases} + 2\,e \rightarrow 2\,O^{2-};\ \bar{\varkappa}_o \text{ (oxydierend)} \\ \rightarrow O_2 + 2\,e;\ \bar{\varkappa}_r \text{ (reduzierend)}, \end{cases}$$

[11] Siehe übrigens auch Anm. 2.

[12] Sämtliche Untersuchungen *Bäckströms* beziehen sich ausschließlich auf diese — und noch dazu recht hohe — Konzentration.

[13] *H. J. L. Bäckström*, Z. physik. Chem., Abt. B **25**, 122 (1934), S. 130.

[14] Siehe auch *E. Abel*, „Über chemische Induktion.", Mh. Chem. **85**, 467 (1954).

[15] Gegenüber einigen, wie ich glaube, unangemessenen Formulierungen [*T. Rigg, G. Stein* und *J. Weiss*, Proc. Roy. Soc. London, Ser. A **211**, 375 (1952); *M. C. R. Symons*, J. Chem. Soc. London **1953**, 3956] möchte ich bemerken, daß H_2O_2 und seine Dissoziationsprodukte nur unter der Voraussetzung als Radikale im Sinne *unmittelbarer* Einstellung auf ihr stationäres Niveau angesprochen werden dürfen, wenn *nachweislich* keine irgendwie maßgebliche zeitliche Anreicherung dieser Molekülgattungen statthat. Im vorliegenden Falle ist diese Voraussetzung erfüllt.

und zwar — etwa in Form von Wasserstoffsuperoxyd[16] angeschrieben — als H_2O_2 in oxydativer, als HO_2^- in reduktiver Richtung; die Aufteilung auf diese beiden Wege in Reaktion mit halboxydiertem, also sowohl der Weiteroxydation als der Rückreduktion fähigem „Sulfit" ($HSO_3 \cdot SO_3^-$) erfolgt im Verhältnisse

$$\frac{\bar{\varkappa}_o [O_2^{2-}]_s [H^+]^2}{\bar{\varkappa}_r [O_2^{2-}]_s [H^+]} = \frac{\bar{\varkappa}_o}{\bar{\varkappa}_r} [H^+] = \frac{\varkappa_o}{\varkappa_r} \frac{[HSO_3^-]}{[SO_3^{2-}]},$$ [17]

so daß der den tatsächlichen Sauerstoffverbrauch anzeigenden Geschwindigkeitsbeziehung der Faktor ψ

$$\psi = \frac{\varkappa_o \frac{[HSO_3^-]}{[SO_3^{2-}]}}{\varkappa_o \frac{[HSO_3^-]}{[SO_3^{2-}]} + \varkappa_r} = \frac{\varkappa_o [HSO_3^-]}{\varkappa_o [HSO_3^-] + \varkappa_r [SO_3^{2-}]}$$

anzugliedern ist.

Die Breite des $\varkappa_r$-Weges nimmt sohin mit steigendem SO_3^{2-}-Gehalt zu, und diesem Umstande mag die überraschend geringe Autoxydationsgeschwindigkeit in konzentrierter — 0,6 molarer — Sulfitlösung, wie diese in der vorletzten Reihe der Tabelle 1 zum Ausdruck kommt, zuzuschreiben sein; wieso es jedoch in solcher Lösung zu bloß geringfügiger Geschwindigkeitserhöhung bei erheblicher Erhöhung des HSO_3^--Gehaltes kommt, ist zur Zeit schwer zu verstehen, es sei denn, daß in bezug auf die Größe des $\frac{\varkappa_o}{\varkappa_r}$-Verhältnisses der Betrag der ionalen Konzentration (Tabelle 1, vorletzte Kol.) eine Rolle spielt; selbst geringe Veränderung dieses Verhältnisses wird sich im Bruttoausmaß der Autoxydationsgeschwindigkeit merklich auswirken können.

II.

Mechanismus negativer Katalyse.

Ein typisches Merkmal sich autoxydierender Systeme ist ihr merkwürdiges Verhalten gegenüber mannigfachen Substanzen sehr verschiedener chemischer Beschaffenheit, deren Zusatz in oft äußerst geringer Konzentration die Autoxydationsgeschwindigkeit in hohem Grade zu vermindern vermag. Die Wirkungsweise solcher sogenannter *negativer Katalysatoren* oder *Inhibitoren* hat die Literatur insbesondere seit den Arbeiten von *S. L. Bigelow*[18] und *A. Titoff*[19] in umfangreicher Weise

[16] Einer Konzentration, die der thermodynamischen Voraussetzung

$$O_2 + 2\,SO_3^{2-} + 2\,H^+ \rightarrow 2\,SO_4^{2-} + H_2O_2; \quad \Delta F < 0$$

entspricht.

[17] Die $\varkappa$'s enthalten die bezüglichen Dissoziationskonstanten. Der Index s bei $[O_2^{2-}]$ bedeutet Konzentration in eingestelltem stationärem Zustande.

[18] Z. physik. Chem. **26**, 493 (1898).

[19] Z. physik. Chem. **45**, 641 (1903).

beschäftigt. Es scheint mir, daß der hier in Rede stehende Mechanismus auch in dieser Richtung Rechenschaft gibt.

Reagiert ein Zusatz Z mit $\overline{O} \cdot O \cdot \overset{+}{X}$, in vorliegendem Falle mit $\overline{O} \cdot O \cdot HSO_3$, in der Richtung:

$$k_2; \quad \overline{O} \cdot O \cdot \overset{+}{X} + Z \rightarrow Z^+ + X + O_2^-,$$

gefolgt von der — insbesondere durch schwache Azidität geförderten — Reaktion

$$Z^+ + O_2^- \rightarrow Z + O_2^{20},$$

so resultiert infolge „nutzlosen", seine (stationäre) Konzentration herabsetzenden Verbrauches von $\overline{O} \cdot O \cdot \overset{+}{X}$, an dessen Wirksamkeit der Autoxydationsvorgang geknüpft ist, Verminderung der Autoxydationsgeschwindigkeit, also *negative Katalyse*, dem Effekte nach im Wege *scheinbarer* Beschleunigung der Rückreaktion

$$\overline{O} \cdot O \cdot \overset{+}{X} \rightarrow X + O_2,$$

als deren „Katalysator" der Zusatz Z *bruttogemäß* wirkt.

Liegt gleichzeitige parallele Umsetzung in Richtung:

$$k_3; \quad \overline{O} \cdot O \cdot \overset{+}{X} + Z \rightarrow Z^+ + X^+ + O_2^{2-}{}^{21}$$

vor, so ist diese negative Katalyse begleitet von — induzierter — Z-Oxydation.

Solchem Mechanismus würde im vorliegenden Falle der Autoxydation von Sulfit unter Voraussetzung gleichzeitigen Bestandes beider $\overline{O} \cdot O \cdot \overset{+}{X}$-$Z$-Reaktionen ($X^+ = HSO_3$) nachstehende

Kinetik negativer Katalyse

entsprechen:

$$[\overline{O} \cdot O \cdot HSO_3] = \frac{k\, p_{O_2}\, [HSO_3^-]}{k' + k_1 [SO_3^{2-}] + (k_2 + k_3)\, [Z]}$$

$$v = \frac{d(SO_4^{2-})}{dt} = 2\, k_1 [\overline{O} \cdot O \cdot HSO_3] [SO_3^{2-}] \cdot \psi^{22}$$

---

[20] Solch „rückentwickelter Sauerstoff" würde etwa auch bei nachstehendem Gedankenexperiment auftreten: Oxydation von H_2O zu H_2O_2 durch Sauerstoff des energetisch erforderlichen Druckes in Gegenwart von Ferriion (Ferriionkatalyse).

[21] Von eventueller Aufteilung in $\varkappa_0$- und $\varkappa_r$-Wege (vgl. oben) sei an dieser Stelle abgesehen.

[22] Unter Vernachlässigung des stets sehr geringfügigen Oxydationsanteiles, der, in Verfolg der k_3-Reaktion, der Brutto-Umsetzung $X \rightarrow X^+$ (d. i. $HSO_3^- \rightarrow HSO_3$) entspricht. — Bezüglich ψ siehe die obigen Ausführungen.

$$(v)_{k_2} = \left(\frac{d(O_2)}{dt}\right)_{\text{„rückentw."}} = k_2[\bar{O} \cdot O \cdot HSO_3][Z]$$

$$(v)_{k_3} = \frac{d(Z^+)}{dt} = 3\,k_3[\bar{O} \cdot O \cdot HSO_3][Z]^{23}.$$

Bei unverändert gehaltenen Substratbedingungen, lediglich als Funktion von Z, ist daher

$$v = \frac{\gamma_1}{\bar{k} + k^*[Z]}^{24}$$

$$(v)_{k_2} = \frac{\gamma_2[Z]}{\bar{k} + k^*[Z]} = \text{prop.}\, v[Z]$$

$$(v)_{k_3} = \frac{\gamma_3[Z]}{\bar{k} + k^*[Z]} = \text{prop.}'\, v[Z].$$

Unter sonst unveränderten Bedingungen wird daher innerhalb eines gegebenen Zeitraumes das Ausmaß an oxydiertem negativem Katalysator dem Produkte $v[Z]$ aus (verzögerter) Autoxydationsgeschwindigkeit und Inhibitorkonzentration proportional sein und zunächst mit $[Z]$ ansteigen. Das gleiche gilt für das Ausmaß des innerhalb einer gegebenen Zeit „rückentwickelten" Sauerstoffes.

Wird bei wachsendem $[Z]$

$$k^*[Z] \gg \bar{k},$$

so wird die Autoxydationsgeschwindigkeit verkehrt proportional der Inhibitorkonzentration und wird während gegebener Zeit das Ausmaß an oxydiertem Inhibitor (seine Oxydationsgeschwindigkeit $(v)_{k_3}$) unabhängig von der Konzentration des letzteren.

Dies aber sind die gleichen Beziehungen[25, 26] und die gleichen Folgerungen, zu denen *H. L. J. Bäckström* auf halbempirischem Wege im Rahmen der Reaktionskettenauffassung gelangt ist, und die er — teilweise im Verein mit *H. N. Alyea* — in einer großen Reihe geradezu kunstvoll durchgeführter, sehr exakter Messungen vollauf bestätigt gefunden hat.

Ist Z etwa Isopropylalkohol, an dem *Bäckström* unter anderem seine Bestimmungen durchführte, so ist Z^+ Aceton und die Inhibitorwirkung des genannten Alkohols ist bedingt durch die Bruttoreaktionenfolge:

---

[23] Der Faktor 3 entstammt der anschließenden Oxydation weiterer 2 Mole Z durch O_3^{2-}; siehe Anm. 21.

[24] $k^* = k_2 + k_3$. Die γ's sind Proportionalitätsfaktoren.

[25] Siehe vor allem z. B. J. Amer. Chem. Soc. **51**, 90 (1929), speziell S. 91, 92.

[26] *Bäckströms* Befund, daß die Inhibitorwirksamkeit im Dunkelsystem um so schwächer wird, je höher die Azidität des Systems ist, liegt durchaus im Sinne der hier entwickelten Theorie; dieser Befund konnte nach der Reaktionskettentheorie *nicht* eigentlich gedeutet werden.

$$2\,O\cdot O\cdot HSO_3 + CH_3CHOHCH_3 \rightarrow 2\,HSO_3^- + CH_3COCH_3 + 2\,HO_2$$
$$2\,HO_2 + CH_3COCH_3 \rightarrow CH_3CHOHCH_3 + 2\,O_2$$

$$2\,(\overline{O}\cdot O\cdot HSO_3 \rightarrow HSO_3^- + O_2).$$

So vermag denn, soweit ich sehe, der hier entwickelte Mechanismus der negativen Katalyse die Reaktionskettenauffassung zu ersetzen; letztere scheint mir bei *thermischen* Autoxydationsvorgängen kaum aufrecht gehalten werden zu können[27], ungeachtet des Umstandes, daß negative Katalyse für Vorliegen von Kettenreaktionen — in Zusammenhalt mit Kettenabbruch — geradezu als charakteristisch, ja als beweisend angesehen worden ist[28].

Rückblickend wird man erkennen, wie außerordentlich verschlungen das Reaktionenspiel ist, das Autoxydationsvorgänge aufweisen; wenn auch die vorstehend entwickelte Theorie an Erfahrungen am Sauerstoff-Sulfit-System recht gut gestützt erscheint, so wird diese doch erst bei starker Erweiterung des experimentellen Materials im erforderlichen Umfange geprüft werden können.

Über zwei neue Peptid-Alkaloide aus Mutterkorn.

(Kurze Mitteilung.)

Von

M. Pöhm.

Aus dem Chemischen Laboratorium der pharm.-chem. Fabrik A. v. Waldheim, Wien.

(Eingelangt am 6. Mai 1954.)

In den Sklerotien von *Claviceps lit.* Kaw. konnten zwei neue Alkaloide papierchromatographisch aufgefunden und für sie eine den bekannten Peptidalkaloiden des Mutterkorns analoge Konstitution wahrscheinlich gemacht werden.

Das handelsübliche Mutterkorn wird von dem Pilz *Claviceps purp.* Tul. parasitisch auf Roggen gebildet. Es enthält neben den sogenannten

[27] Ist z. B. in Gegenwart von Cu^{2+}-Ionen

$$Cu^{2+} + HSO_3^- \rightarrow Cu^+ + HSO_3$$

die einleitende Reaktion, was sehr wahrscheinlich ist, so kann, wie gelegentlich diskutiert wurde, im gleichen System die Gegenreaktion für Kettenabbruch offenbar nicht verantwortlich gemacht werden.

[28] Siehe z. B. *R. C. Haring* und *J. H. Walton*, J. Physic. Chem. **37**, 133 (1933); *E. H. Baker*, J. Appl. Chem. London **3**, 323 (1953); diese Arbeiten betreffen Autoxydation von Stannosalz und zwar insbesondere auch das Ausmaß der verzögernden Wirksamkeit zugesetzter Fremdstoffe (Inhibitoren).

wasserlöslichen Alkaloiden eine Reihe von Peptidalkaloiden, deren Konstitution von *Stoll*, *Hofmann* und *Petrzilka*[1] sichergestellt werden konnte. Mit Hilfe papierchromatographischer Methoden können diese Alkaloide (Ergotamin, Ergosin, Ergocristin, Ergocornin, Ergokryptin und deren rechtsdrehende Isomere Ergotaminin, Ergosinin usw.) nebeneinander nachgewiesen und quantitativ bestimmt werden[2].

Bei der papierchromatographischen Untersuchung der Alkaloide aus Sklerotien von *Claviceps lit.* Kaw.[3], ein parasitisch auf *Elymus mollis* vorkommender Pilz, erhielten wir acht Fluoreszenzflecke. Vier davon konnten als die bekannten Alkaloide Ergosin und Ergokryptin und ihre durch sterische Umlagerung entstandenen Isomere identifiziert werden. Diese beiden Alkaloide wurden auch von *Tanaka* und *Sugawa* als Inhaltsstoffe des auf *Elymus mollis* Trin. wachsenden Mutterkorns angegeben[4]. Die vier anderen Flecke kommen wahrscheinlich zwei bisher unbekannten Alkaloiden und ihren bei der Aufarbeitung der Droge gebildeten Epimeren zu, für welche wir die Namen Ergohexin (Ergohexinin) und Ergoheptin (Ergoheptinin) vorschlagen. Die neuen Alkaloide gaben nach ihrer papierchromatographischen Abtrennung wie die Lysergsäure und deren Derivate die Kondensation mit p-Dimethylaminobenzaldehyd in Schwefelsäure[5, 6]. Das Ergohexin zeigte die für die Ergotamingruppe charakteristische Verteilung zwischen wäßrigen Pufferlösungen und organischen Lösungsmitteln[7], das Ergoheptin die für die Ergotoxingruppe charakteristischen Eigenschaften.

Mit Hilfe der Reaktion mit dem p-Dimethylaminobenzaldehyd bestimmten wir in bekannter Weise auch die Menge der papierchromatographisch getrennten Lysergsäurederivate in dem obigen Mutterkorn und fanden: Ergosin 0,13%, Ergokryptin 0,70%, Ergohexin 0,01% und Ergoheptin 0,06%. Ergotamin, Ergocristin und Ergocornin konnten in diesem Mutterkorn nicht nachgewiesen werden. Sobald wir eine größere Menge obigen Mutterkorns zur Verfügung haben, werden wir versuchen, die neuen papierchromatographisch entdeckten Substanzen rein darzustellen.

Bei der Säurespaltung der neuen papierchromatographisch abgetrennten und aus dem Papier extrahierten Alkaloide erhielten wir neben

---

[1] Helv. Chim. Acta **34**, 1544 (1951).
[2] *M. Pöhm* und *L. Fuchs*, Naturwiss. **40**, 244 (1953); **41**, 63 (1954).
[3] Für die freundliche Überlassung danken wir Herrn Dr. *T. Kawatani*, Saitama-ken, Japan, bestens.
[4] J. Pharmac. Soc. Japan **72**, 620 (1952).
[5] *M. Pöhm*, Arch. Pharmaz. **286**, 509 (1953).
[6] *M. Pöhm*, Mitt. chem. Forsch.-Inst. Wirt. Österr. **7**, 121 (1953).
[7] *H. Hellberg*, Farm. Revy **50**, 17 (1951); **52**, 535 (1953).

Prolin eine unbekannte und in der Natur anscheinend bisher noch nie aufgefundene Aminosäure, die papierchromatographisch charakterisiert

Tabelle 1. R_f-Werte von Aminosäuren auf Schleicher & Schüll-Papier 2043 a bei 20° C. Absteigende Arbeitsweise.

Lösungsmittelgemische	Prolin	Valin	Leucin	Phenyl-alanin	Aminosäure aus Ergo-hexin und Ergoheptin
n-Butanol : Eisessig : Wasser, 4 : 1 : 5 ..	0,33	0,48	0,64	0,58	0,75
n-Butanol : Benzylalkohol : Eisessig : Wasser, 2 : 2 : 1 : 5	0,29	0,38	0,58	0,62	0,69
n-Butanol : Benzylalkohol : Wasser, 1 : 1 : 2	0,11	0,15	0,30	0,39	0,50

wurde (Tabelle 1). Die Ninhydrinreaktion der neuen Aminosäure ist purpur. Bei der Säurespaltung der bisher bekannten Peptidalkaloide des Mutterkorns werden die Aminosäuren Prolin, Valin, Leucin und Phenylalanin erhalten; durch papierchromatographische Bestimmung des Mengenverhältnisses der drei letztgenannten Aminosäuren in Alkaloidhydrolysaten können auf die Zusammensetzung von Mutterkornalkaloidgemischen gewisse Rückschlüsse gezogen werden[8, 9].

Auf Grund obiger Befunde nehmen wir als wahrscheinlich an, daß den beiden neuen Alkaloiden eine den bekannten Peptidalkaloiden des Mutterkornes analoge Konstitution zukommt. Die bei der hydrolytischen Spaltung erhältliche Aminosäure wird durch Vergleich mit synthetisch hergestellten Verbindungen zu identifizieren versucht werden.

Die Identität von Pelletierin mit Isopelletierin.

(Kurze Mitteilung.)

Von

F. Galinovsky und R. Höllinger.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 28. Juni 1954.)

Wie wir in einer vor 2 Jahren erschienenen Veröffentlichung[1] mitgeteilt haben, fanden wir bei einer erneuten Untersuchung der Alkaloide der Granatapfelbaumrinde, daß darin das Isopelletierin in weit größerer

[8] *G. E. Foster, J. Macdonald* und *T. S. G. Jones*, J. Pharmac. Pharmacol. **1**, 802 (1949).

[9] *L. Fuchs* und *M. Pöhm*, Scient. Pharmaceut. **19**, 232 (1951).

[1] *F. Galinovsky* und *O. Vogl*, Mh. Chem. **83**, 1055 (1952). Dort weitere Literaturangaben.

Menge enthalten ist als nach den Angaben der früheren Bearbeiter dieser Alkaloide zu erwarten war. Es wurde anschließend auf Grund dieser Versuche und früherer Arbeiten, die sich mit der Synthese des „Pelletierins" befaßten, die Vermutung ausgesprochen, daß das sogenannte „Pelletierin" der Literatur in Wirklichkeit Isopelletierin ist. Die Abtrennung des Isopelletierins von den tertiären Basen erfolgte in der genannten Arbeit[1] durch Acetylierung oder Benzoylierung. Mit Hilfe dieser Methodik wurde inzwischen eine Reihe weiterer Rindenproben untersucht[2] und das zuerst erhaltene Resultat bestätigt.

Bei der Fortsetzung unserer Untersuchungen wandten wir nun zur Trennung der Alkaloide die elegante verteilungschromatographische Methode an, die *Chilton* und *Partridge*[3] angeben. An einer gepufferten Kieselgursäule wird zuerst mit Äther das Pseudopelletierin und anschließend mit Chloroform das Methylisopelletierin eluiert, während ein weiterer Alkaloidanteil adsorptiv gebunden zurückbleibt und dann mittels Säuren aus dem Kieselgur herausgelöst werden kann. Diese Alkaloide wurden an gepuffertem Glaspulver neuerlich chromatographiert. Ein auf diese Weise in größerer Menge erhaltenes Alkaloid glaubten nun obige Autoren auf Grund des Schmp. des Pikrats von 150° als Pelletierin identifizieren zu können, für dessen Pikrat dieser Schmp. in der Literatur[4] angegeben ist. Ein direkter Vergleich wurde nicht durchgeführt. Wir haben nun die aus einem Präparat der Fa. Merck, Darmstadt, das die Hydrobromide der Gesamtbasen enthält, und aus einer Wurzelrinde von Punica granatum L. isolierten Alkaloide nach *Chilton* und *Partridge* verteilungschromatographisch getrennt und den in der Kieselgursäule verbleibenden Alkaloidanteil mit Säure herausgelöst und, ohne weitere Chromatographie an Glaspulver aufgearbeitet. Das schließlich erhaltene Alkaloid war in beiden Fällen nach dem Schmp. und Mischschmp. (148°) seines aus Alkohol umgelösten Pikrats identisch mit rac. Isopelletierin. Nach all diesen Befunden kann kein Zweifel mehr daran bestehen, daß unsere früher geäußerte Vermutung zu Recht besteht, *daß nämlich das Pelletierin der Literatur in Wirklichkeit Isopelletierin ist* und daß demnach in der Granatapfelbaumrinde 3 Alkaloide in größerer Menge vorkommen, nämlich Pseudopelletierin, Isopelletierin und Methylisopelletierin[5].

---

[2] *O. Vogl* und *G. Bianchetti*, unveröffentlicht.

[3] *J. Chilton* und *M. W. Partridge*, J. Pharmac. Pharmacol. **2**, 784 (1950). Diese Arbeit war uns bei Abfassung unserer Arbeit noch nicht bekannt.

[4] *K. Heß* und *A. Eichel*, Ber. dtsch. chem. Ges. **50**, 1386 (1917).

[5] Daß noch weitere Alkaloide in geringer Menge in der Rinde enthalten sind, wird auch durch die Arbeit von *Chilton* und *Partridge*[3] und neuerdings durch eine papierchromatographische Untersuchung der Granatapfelbaumalkaloide von *J. P. Wibaut*, *H. C. Beyermann* und *P. H. Enthoven* [Rec. trav. chim. Pays-Bas **73**, 102 (1954)] gezeigt.

Eine weitere Frage ist die der optischen Aktivität der beiden letztgenannten Alkaloide. Während *Ch. Tanret* und *G. Tanret*[6] beide Alkaloide optisch aktiv fanden, erhielten *Hess* und *Eichel*[7] alle Basen inaktiv. *Chilton* und *Partridge*[3] fanden nun das Sulfat ihres verteilungschromatographisch erhaltenen Isopelletierins optisch aktiv. Wir haben in einer kürzlich erschienenen Arbeit[8] durch Versuche mit synthetischem, optisch aktiven Isopelletierin und Methylisopelletierin gezeigt, daß Isopelletierin in wäßriger und alkoholischer Lösung eine viel geringere Racemisierungsgeschwindigkeit besitzt als sein N-Methylderivat und daß bei schonender Extraktion und entsprechender und rascher Aufarbeitung der Alkaloide es möglich sein müsse, zumindest Isopelletierin teilweise optisch aktiv zu erhalten. Wir konnten nun bei einer entsprechend modifizierten Extraktion der Rinde und Aufarbeitung der Alkaloide, wobei ein längeres Verweilen der Alkaloide in alkalischem Milieu vermieden wurde, auch (—)-Isopelletierin in Form des Pikrats (Schmp. 131 bis 132°)[9] erhalten, das sich leicht durch Umlösen von dem in Methanol schwerer löslichen Pikrat des rac. Isopelletierins abtrennen läßt. Nach diesen und den Ergebnissen von *Chilton* und *Partridge*[3] ist also anzunehmen, daß Isopelletierin und dementsprechend auch Methylisopelletierin in der Rinde optisch aktiv vorkommen und sich erst bei der Isolierung ganz oder teilweise racemisieren, wobei das Ausmaß der Racemisierung von den Bedingungen der Extraktion und Aufarbeitung abhängt.

Was die Frage des Mechanismus der Racemisierung anlangt, so fanden wir neuerdings, daß optisch aktives N-Acetylisopelletierin sich in wäßrig-alkalischer Lösung nicht racemisiert, ein Befund, der mit dem von uns angegebenen Mechanismus der Racemisierung[8] in Einklang steht.

Eine ausführliche Beschreibung der Versuche erfolgt später in dieser Zeitschrift.

---

[6] *Ch. Tanret*, C. r. acad. sci., Paris **88**, 716 (1879); **90**, 695 (1880). — *G. Tanret*, Bull. soc. chim. France [4] **27**, 612 (1920).

[7] *K. Hess* und *A. Eichel*, Ber. dtsch. chem. Ges. **50**, 380, 1386 (1917).

[8] *F. Galinovsky*, *G. Bianchetti* und *O. Vogl*, Mh. Chem. **84**, 1221 (1953).

[9] *G. Tanret*[5] gibt bereits den Schmp. des opt. akt. „Pelletierins" mit 131 bis 132° an.

Erratum.

In der Abhandlung „*Beiträge zur Konfigurationslehre*" von *K. Freudenberg*, Mh. Chem. **85**, 537 (1954), soll es auf S. 542 in Anmerkung 41a statt „Amylase" „Amylose", auf S. 543, Zeile 24 von oben, statt „Dichloräpfelsäuren" „Chloräpfelsäuren" und in Zeile 26 ebenfalls statt „Dichloräpfelsäure" „Chloräpfelsäure" heißen.

Herausgeber: Akademie der Wissenschaften, Wien 1, Dr.-Ignaz-Seipel-Platz 2, und Verein Österr. Chemiker, Wien I, Eschenbachgasse 9. — Verlag: Springer-Verlag, Wien I, Mölkerbastei 5. — Für den Inhalt verantwortlich: Prof. Dr. F. Galinovsky, Wien IX, Währinger Straße 38. Druck: Manzsche Buchdruckerei, Wien IX, Lustkandlgasse 52.

Fortsetzung von der II. Umschlagseite

Seite

Himpan, J. Eine neue thermische Zustandsgleichung der Stoffe für ihren Gas- und Flüssigkeitszustand 936

Hüttig, G. F., H. Jöbstl und **G. Glawitsch.** Untersuchungen an dem System BaO_2/Fe_2O_3 mit Hilfe der Hahnschen Emaniermethode 976

Kaindl, K. Biophysikalische Analyse der Konzentrations-Wirkungskurven von Wirkstoffen (insbesondere Zellstreckungswuchsstoffen).. 985

Maschka, A. und **H. Aust.** Ramanspektren einiger Derivate der Sulfanilsäure 891

Michl, H. und **F. Haberler.** Über die Bestimmung von Purinen in coffeinhaltigen Drogen 779

Schönfeld, T. und **S. Neumann.** Über die Aufnahme von Blei und Wismut durch Glasoberflächen 921

Organische Chemie und Biochemie.

Bretschneider, H., G. Piekarski und **K. Biemann.** Über das 2-Dichlormethyl-oxazolin und seine Kondensation mit 4-Nitrobenzaldehyd... 882

Brunner, O. Zur Umsetzung von α-Brom-β-methoxy-buttersäureester mit Natriumalonester. 2. Mitt. 918

Eiter, K. und **K. Letnansky.** L-Desoxy-chloromycetin 822

Gabriel, O., O. F. Schwarz und **O. Hoffmann-Ostenhof.** Die Konzentration der Pyridinnucleotide in verschiedenen Organen des gesunden Meerschweinchens 840

Galinovsky, F., O. Vogl und **H. Nesvadba.** Die Konstitution des Laburnins 913

Galinovsky, F. und **R. Höllinger.** Die Identität von Pelletierin mit Isopelletierin. (Kurze Mitt.) 1012

Holasek, A. und **K. Winsauer.** Zur papierchromatographischen Trennung gesättigter Fettsäuren 796

Hromatka, O. und **R. Haberl.** Über das 2,3,5,6-Tetramethyl-2,5-endoxy-1,4-dithian 830

Kratzl, K. und **G. Billek.** Die Synthese des mit ^{14}C am C_3 der Seitenkette markierten p-Cumaralkoholglucosides und des Syringins 845

Kuffner, F. und **E. Kaiser.** Über das Nicotellin und die Synthese eines neuen Terpyridyls 896

Lock, G. Über das vereinfachte Wolff-Kishner-Verfahren bei aromatischen Oxyoxo-Verbindungen 802

Müller, A., P. Görlich und **L. Kahofer.** Binäre Systeme von Carcinogenen und verwandten Verbindungen in Beziehung zur krebserzeugenden Wirksamkeit: Mehrkernige aromatische Verbindungen, I 906

Pöhm, M. Über zwei neue Peptid-Alkaloide aus Mutterkorn. (Kurze Mitt.) 1010

Riemschneider, R. und **R. Oswald.** Über die Chlorierung von Penta- und Hexachlorbenzol 972

Schlögl, K., F. Wessely und **E. Wawersich.** Konstitutionsermittlung von Peptiden VII. Die gleichzeitige Bestimmung der amino- und carboxylendständigen Aminosäure mittels Hydrazins 957

Schmid, L. und **H. Mann.** Das Verhalten von 2-Aminopyridin und 2,6-Diaminopyridin gegenüber Dicarbonsäureanhydriden 864

Tuppy, H. und **G. Bodo.** Cytochrom c. I 807

Waldmann, E., V. Prey und **F. Jelinek.** Zur Kenntnis der Brenztraubensäure 872

Zahn, H. und **H. Zuber.** Über das Reaktionsprodukt von p,p'-Difluor-m,m'-dinitrodiphenylsulfon mit Seidenfibroin 759

Zischka, W., K. Karrer, O. Hromatka und **E. Broda.** Stoffwechselversuche mit radioaktiv markiertem Buttergelb 856

FILED IN STACKS

SPRINGER-VERLAG IN WIEN I

Die neuzeitlichen Textilveredlungs-Verfahren der Kunstfasern

Die Patentliteratur und das Schrifttum von 1939 bis 1949/50

Von

Dr.-Ing. **F. Weber** und Dipl.-Ing. **A. Martina**
Wien Wien

XX, 786 Seiten. 1951

Ganzleinen S 672.— DM 134.40, $ 32.— sfr. 139.20

„...In übersichtlicher und anschaulicher Weise werden an Hand der Zeitschriften- und Patentliteratur die Entwicklung und die Fortschritte auf dem Gebiet der Textilveredlung während der Zeit von 1939 bis 1949/50 geschildert. Durch das vorliegende Werk, das dem Fachmann bei seinen Arbeiten wertvolle Hilfe bietet, wird zweifellos ein zur Zeit bestehender fühlbarer Mangel an geeigneter, neuzeitlicher Übersichtsliteratur auf dem Gebiet der modernen Textilveredlung behoben." *Chemisches Zentralblatt*

Soeben erschien:

Ergänzungsband I

Die Patentliteratur und das Schrifttum von 1950 bis 1953

XV, 381 Seiten. 1954

Ganzleinen S 348.—, DM 58.—, $ 13.80, sfr. 59.30

Infolge der raschen Entwicklung wurde bereits jetzt ein erster Ergänzungsband notwendig, der sich in folgende Abschnitte gliedert: *Die künstlichen Fasern; Das Bleichen; Die Färberei; Die Druckerei; Die Appretur; Die Vorbehandlung.* Dieser Ergänzungsband ist somit auch in seinen einzelnen Abschnitten als Fortsetzung des Hauptwerkes zu betrachten. Er umfaßt die Zeit von 1950 bis einschließlich Juni 1953, teilweise sogar auch bis Ende 1953, und berücksichtigt zirka 5000 Patente sowie zirka 2000 Literaturstellen, die mit dem vollständigen Titel zitiert werden.

Diesmal wurden auch belgische, italienische, kanadische, australische und, soweit möglich, ostdeutsche Patente verarbeitet. Am Schluß findet sich wieder ein komplettes Patentnummernverzeichnis. Bei Mehrfachpatentierung wurden die Patente trotzdem im Rahmen der einzelnen Länder aufgeführt, da erfahrungsgemäß der Lesende zunächst die Patente des eigenen Landes nachschlägt. Dadurch bleibt lästiges Suchen erspart.

Auf Wunsch der Benützer des Hauptwerkes wurde der Abschnitt über die künstlichen Fasern erweitert und somit der Herstellung der synthetischen Fasern ganz besondere Beachtung geschenkt. Eingehend wird auch die Färberei, insbesondere die der synthetischen Fasern behandelt. Die Ergebnisse neuer Arbeitsmethoden werden gebracht, soweit über sie bereits praktische Erfahrungen vorliegen.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung

Printed in Austria.